

**REVIEW ARTIKEL: TEKNOLOGI FERMENTASI L-LISIN DAN APLIKASINYA
SEBAGAI BAHAN ADITIF PAKAN**

**ARTICLE REVIEW: FERMENTATION TECHNOLOGY L-LYSINE AND APPLICATION
AS A FEED ADDITIVE**

Nailil Hidayah and Nuniek Herdyastuti*

*Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Universitas Negeri Surabaya*

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

**Corresponding author, email: nuniekherdyastuti@unesa.ac.id*

Abstrak. L-lisin adalah asam amino esensial yang digunakan di berbagai sektor industri makanan, kimia, dan farmasi. L-lisin memiliki nilai komersial yang signifikan sebagai aditif pakan untuk mendorong pertumbuhan dan kesehatan ternak. L-lisin dapat diproduksi melalui dua metode utama yaitu sintesis kimia dan fermentasi mikroba. Permintaan L-lisin terus meningkat dalam beberapa tahun terakhir dan diproduksi setiap tahun di seluruh dunia hampir melalui fermentasi mikroba. Produksi L-lisin melalui fermentasi mikroba memiliki kelebihan menghasilkan produk samping yang bersifat tidak beracun dan memiliki nilai komersial yang tinggi. Pada umumnya L-lisin diproduksi menggunakan strain bakteri heterotrofik, seperti *Escherichia coli* dan *Corynebacterium glutamicum*. Waktu fermentasi, pH, suhu, konsentrasi glukosa, laju aliran udara dan laju aerasi merupakan faktor terpenting dalam proses fermentasi. Proses fermentasi L-lisin dibagi menjadi empat bagian yaitu preparasi molase; preparasi media kultur; fermentasi; dan pemurnian. L-lisin dipisahkan dan dimurnikan dengan proses hilir yang sesuai, melibatkan metode pemisahan atau ekstraksi klasik (ultrafiltrasi atau sentrifugasi, pemisahan atau ekstraksi pertukaran ion, kristalisasi, pengeringan) dan dijual sebagai bubuk. Kaldu fermentasi cair yang dihasilkan juga dapat digunakan sebagai suplemen pakan ternak. Penambahan L-lisin pada pakan dapat meningkatkan kualitas pakan, L-lisin dapat memberikan manfaat dalam bentuk mempercepat pertumbuhan dan memperpendek masa produksi, sehingga biaya operasional dapat ditekan. Artikel review ini membahas tentang produksi L-lisin, faktor yang mempengaruhi fermentasi L-lisin, serta aplikasinya sebagai aditif pakan.

Kata kunci : L-lisin, fermentasi, pakan ternak

Abstract. L-lysine is an essential amino acid used in various sectors of the food, chemical and pharmaceutical industries. L-lysine has significant commercial value as a feed additive to promote growth and health in livestock. L-lysine can be produced through two main methods, namely chemical synthesis and microbial fermentation. The demand for L-lysine has been steadily increasing in recent years and is produced every year throughout the world almost through microbial fermentation. L-lysine production through microbial fermentation has the advantage of producing by-products that are non-toxic and have high commercial value. In general, L-lysine is produced using heterotrophic bacterial strains, such as *Escherichia coli* and *Corynebacterium glutamicum*. Fermentation time, pH, temperature, glucose concentration, air flow rate and aeration rate are the most important factors in the fermentation process. The L-lysine fermentation process is divided into four parts, namely molasses preparation; preparation of culture media; fermentation; and purification. L-lysine is separated and purified by appropriate downstream processes, involving classical separation or extraction methods (ultrafiltration or centrifugation, ion exchange separation or extraction, crystallization, drying) and sold as powder. Adding L-lysine to feed can improve feed quality. L-lysine can provide benefits in the form of accelerating growth and shortening the production period, so that operational costs can be reduced. This review article discusses L-lysine production, factors influencing L-lysine fermentation, and its application as a feed additive.

Keywords: L-lysine, fermentation, feed additive

PENDAHULUAN

L-lisin merupakan salah satu asam amino esensial yang harus tersedia dalam jumlah yang cukup dalam bahan pakan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi hewan dan manusia. L-lisin banyak digunakan dalam industri seperti industri makanan, kimia, kosmetik dan industri farmasi [1]. L-lisin dapat diproduksi menggunakan metode sintesis kimia atau fermentasi mikroba. L-lisin yang diproduksi melalui sintesis kimia membutuhkan instalasi khusus dan penggunaan produk yang mahal, meskipun *yield* yang dihasilkan relatif lebih tinggi. L-lisin dari sintesis kimia menghasilkan campuran rasemat berupa bentuk DL-inaktif [2]. Sedangkan L-lisin yang diproduksi melalui fermentasi menghasilkan L-lisin yang optis aktif (L-isomer) dan ekonomis karena menggunakan sumber karbon dan nitrogen yang murah, meskipun *yield* yang dihasilkan relatif lebih rendah. Selain itu produk sampingan yang dihasilkan selama fermentasi lisin tidak beracun dan memiliki nilai komersial yang tinggi. [3]. Setiap tahun produksi L-lisin di dunia mencapai 2.200.000 ton yang diproduksi hampir secara eksklusif dengan metode fermentasi menggunakan mutan *Corynebacterium glutamicum* dan termasuk dalam salah satu produk bioteknologi unggulan [4].

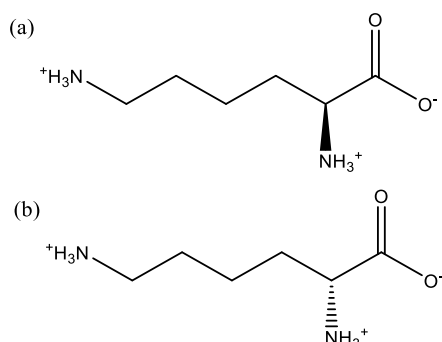
Proses produksi L-lisin dibagi menjadi empat bagian, yaitu preparasi molase; preparasi media kultur; fermentasi; dan pemurnian [5]. Pemakaian strain bakteri dalam produksi L-lisin menggunakan strain bakteri *Corynebacteria* gram positif diantaranya *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Brevibacterium flavum* [6]. Strain bakteri tersebut, telah diaplikasikan selama lima puluh tahun terakhir untuk memproduksi asam amino L-lisin. Peranan bakteri tersebut dalam produksi L-lisin adalah sebagai sumber enzim yang digunakan dalam proses produksi. *Corynebacterium glutamicum* menghasilkan enzim aspartate kinase, dimana aktivitas enzimatik aspartate kinase menentukan jalannya biosintesis L-lisin [7]. Fermentasi ini dapat dilakukan dengan media yang mengandung sumber karbon dan nitrogen yang cukup untuk mendukung pertumbuhan bakteri. Molase yang diperoleh dari limbah industri pengolahan gula ialah salah satu sumber karbon yang potensial. Penggunaan molase sebagai sumber karbon telah diterapkan dalam fermentasi asam amino lain seperti pada asam L-glutamat, L-triptofan, dan L-fenil-alanin [8]. Pemisahan dan pemurnian L-lisin

merupakan faktor yang sangat mempengaruhi keefektifan proses fermentasi. L-lisin dipisahkan dan dimurnikan dengan proses hilir yang sesuai, melibatkan metode pemisahan atau ekstraksi klasik (ultrafiltrasi atau sentrifugasi, pemisahan atau ekstraksi pertukaran ion, kristalisasi, pengeringan) menghasilkan kaldu fermentasi berupa bubuk, butiran atau pelet yang dimanfaatkan untuk mencukupi kebutuhan industri kimia, makanan dan farmasi [9].

L-lisin memiliki nilai komersial yang signifikan sebagai aditif pakan untuk mendorong pertumbuhan hewan termasuk babi dan unggas [10]. L-lisin digunakan sebagai aditif pakan, karena pada umumnya lisin merupakan asam amino esensial yang menjadi pembatas utama dalam sejumlah besar sumber protein yang digunakan dalam pakan [11]. Defisiensi L-lisin pada pakan akan mengganggu kekebalan tubuh hewan dan meningkatkan kerentanan hewan terhadap penyakit menular [12]. Penyertaan lisin dalam komposisi pakan mampu meningkatkan mutu pakan dengan meningkatkan kandungan protein, lemak, dan energi. Hal ini dapat berkontribusi pada percepatan pertumbuhan hewan yang tengah dibudidayakan. Lebih lanjut, penambahan lisin pada pakan dapat meningkatkan daya serap nutrisi melalui ileum (bagian usus), yang pada gilirannya dapat mempercepat laju pertumbuhan hewan dan meningkatkan efisiensi konsumsi pakan [13].

L-LISIN

Lisin disingkat Lys atau K, adalah asam α -amino yang digunakan untuk biosintesis protein (proteinogenesis). Lisin adalah asam amino esensial untuk semua hewan termasuk manusia, oleh karena itu lisin harus diperoleh melalui asupan makanan. Bentuk bebas lisin pada pH fisiologis mengandung gugus α -amino terprotonasi ($-\text{NH}_3^+$), gugus asam α -karboksilat terdeprotonasi ($-\text{COO}^-$), dan rantai samping ϵ -amino terprotonasi ($-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_3^+$) seperti pada Gambar 1. Lisin ada sebagai salah satu dari dua bentuk enansiomer: L-lisin (Gambar 1a) dan D-lisin (Gambar 1b). Kelimpahan L-enansiomer lisin lebih besar dari D-enansiomer karena semua organisme hidup secara selektif menggunakan bentuk L-enansiomer dari semua asam amino proteogenik untuk sintesis protein [14].



Gambar 1. Struktur enansiomer lisin pada pH fisiologis, (a) L-lisin dan (b) D-lisin.

Bentuk komersial utama lisin adalah L-Lisin-HCl (L-lisin monohidroklorida). L-lisin umumnya diproduksi dengan kemurnian lebih dari 98,5% dalam bentuk hidroklorinasi stabil dan non higroskopis dengan kadar air kurang dari 1%. Sebanyak 80% L-lisin di pasar dunia diproduksi melalui fermentasi mikroba dan 20% sisanya melalui sintesis kimia [3]. L-lisin yang diproduksi melalui sintesis kimia membutuhkan instalasi khusus dan penggunaan produk yang mahal, meskipun yield yang dihasilkan relatif lebih tinggi. L-lisin dari sintesis kimia menghasilkan campuran rasemat yang berupa bentuk DL-inaktif [2]. Sedangkan L-lisin yang diproduksi melalui fermentasi memiliki kelebihan dalam

menghasilkan asam amino bentuk-L yang aktif secara biologis menggunakan sumber karbon dan nitrogen yang lebih ekonomis [3].

Sejarah fermentasi L-lisin dimulai pada akhir tahun 1950-an ketika Kyohwa Hakko Kogyo menemukan bahwa mutan homoserin-auksotrofik yaitu *Corynebacterium glutamicum* dapat menghasilkan lisin dalam jumlah yang signifikan dalam medium cair [15]. *Corynebacterium glutamicum* adalah bakteri berbentuk batang tidak beraturan, gram-positif, anaerob fakultatif dan bersifat non-patogenik yang dapat ditemukan di tanah, kotoran hewan, buah-buahan, dan sayuran [16].

Peningkatan produksi L-lisin terus dikembangkan terutama dalam perbaikan strain mutan, banyak mikroorganisme dengan karakteristik nutrisi yang sama diisolasi untuk produksi L-lisin [17]. *Brevibacterium lactofermentum*, *Brevibacterium flavum*, *Escherichia coli*, *Bacillus megaterium* dan *Corynebacterium glutamicum* telah dikembangkan sebagai produsen L-lisin (Tabel 1). Produsen L-lisin terbaik yang telah dilaporkan adalah strain *Escherichia coli* dan *Corynebacterium glutamicum* yang masing-masing menghasilkan lisin sebesar 136,6 g/l dan 181,5 g/l dengan strategi fermentasi yang berbeda [18] [19].

Tabel 1. Produktivitas Mikroorganisme Penghasil L-Lisin [20]

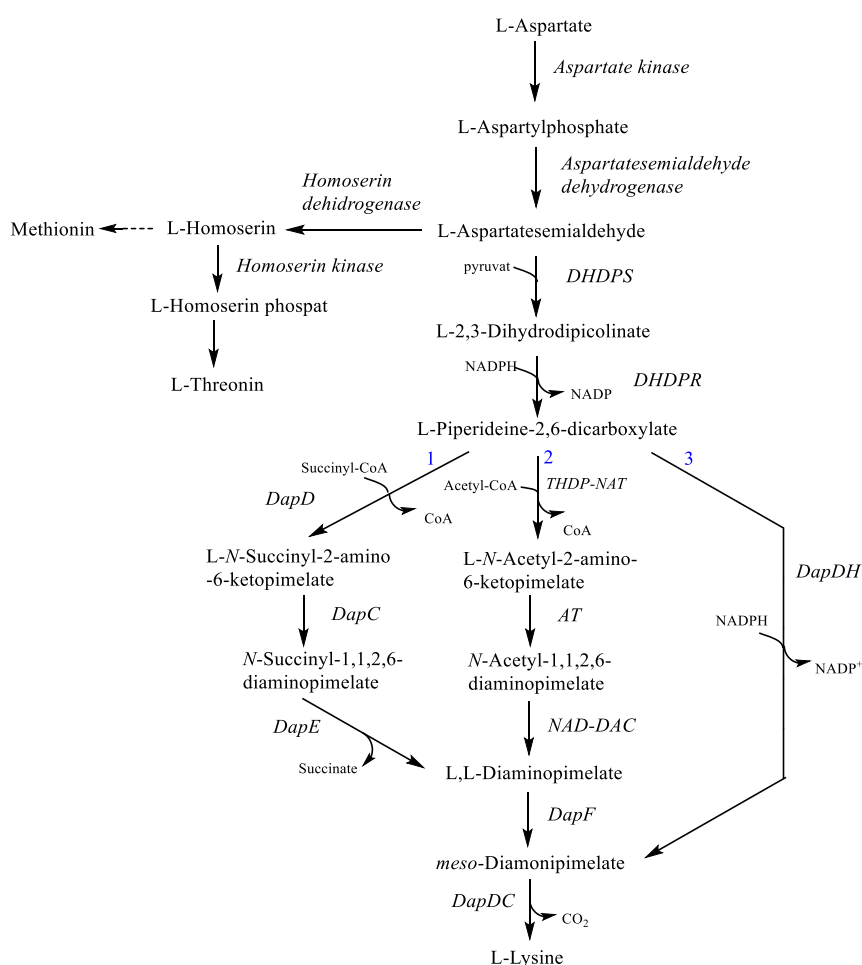
Strain Bakteri	Produktivitas (g l ⁻¹ h ⁻¹)	Hasil (%)	Titer (g l ⁻¹)	Sumber
<i>C. glutamicum</i> LYS-12	4	55	120	[20]
<i>C. glutamicum</i> JL-69P _{tac-M} gdh	3,78	64,6	181,5	[20]
<i>E. coli</i> NT1003	1,9	45,4	134,9	[21]
<i>E. coli</i> MU-1	2,84	55,43	136,51	[19]
<i>E. coli</i> LATR11/ pWG-DC SM A SM BH _{c,g} LP	3,14	58,97 ^{b)}	125,6	[22]
<i>B. flavum</i> 13826	5,2	-	125	[23]
<i>B. lactofermentum</i>	-	-	50,0	[24]
<i>Bacillus megaterium</i> IIB187	-	-	1,2	[25]

L-lisin dapat melalui 2 jalur biosintesis di alam yaitu α -aminoadipate dan diaminopimelate. Jalur α -aminoadipate digunakan oleh jamur untuk mensintesis L-lisin dari α -ketoglutarat dan asetil

koenzim A (asetil-KoA). Sedangkan jalur diaminopimelate (DAP) mensintesis L-lisin dari aspartat dan piruvat, jalur ini digunakan oleh sebagian besar bakteri terutama terutama *Corynebacterium glutamicum* [26]. Jalur

diaminopimelate (DAP) termasuk dalam jalur keluarga aspartat di mana aspartat kinase (AK) adalah enzim pertama yang mengkatalisis fosforilasi aspartat untuk membentuk aspartat-semialdehid. Selanjutnya enzim sintase dihidrodipikolinat (DHDPS) mengkatalisis aspartat-semialdehid dengan piruvat, untuk membentuk dihidrodipikolinat (DHDP). Reaksi yang dikatalisis oleh DHDPS adalah titik regulasi utama pada jalur diaminopimelate karena aktivitas DHDPS secara ketat dihambat oleh umpan balik lisin [27]. DHDP reduktase mengkatalisis DHDP untuk menghasilkan tetrahydrodipicolinate (THDP). Terdapat tiga jalur berbeda untuk biosintesis L-lisin (Gambar 2) yang bercabang dari

THDP pada bakteri, yaitu jalur suksinilase, jalur asetilase, dan jalur m-DAP dehidrogenase. Bakteri *Corynebacterium glutamicum* memanfaatkan jalur suksinilase dan m-DAP dehidrogenase. Pada jalur suksinilase, L,L-diaminopimelate (L,L-DAP) disintesis dari THDP melalui langkah suksinilasi, transaminasi, dan desuksinilasi; L, L-DAP diubah menjadi D, L-DAP dengan aksi DAP epimerase (DapF). Sebaliknya, dalam jalur m-DAP dehidrogenase, DAP dehidrogenase mengubah THDP menjadi D,L-DAP dalam satu langkah; DAP dekarboksilase selanjutnya mengkatalisis dekarboksilasi D,L-DAP untuk membentuk L-lisin [28].



Gambar 2. Jalur DAP pada biosintesis lisin. 1, jalur suksinilase; 2, jalur asetil; 3, jalur dehidrogenase [29] [30].

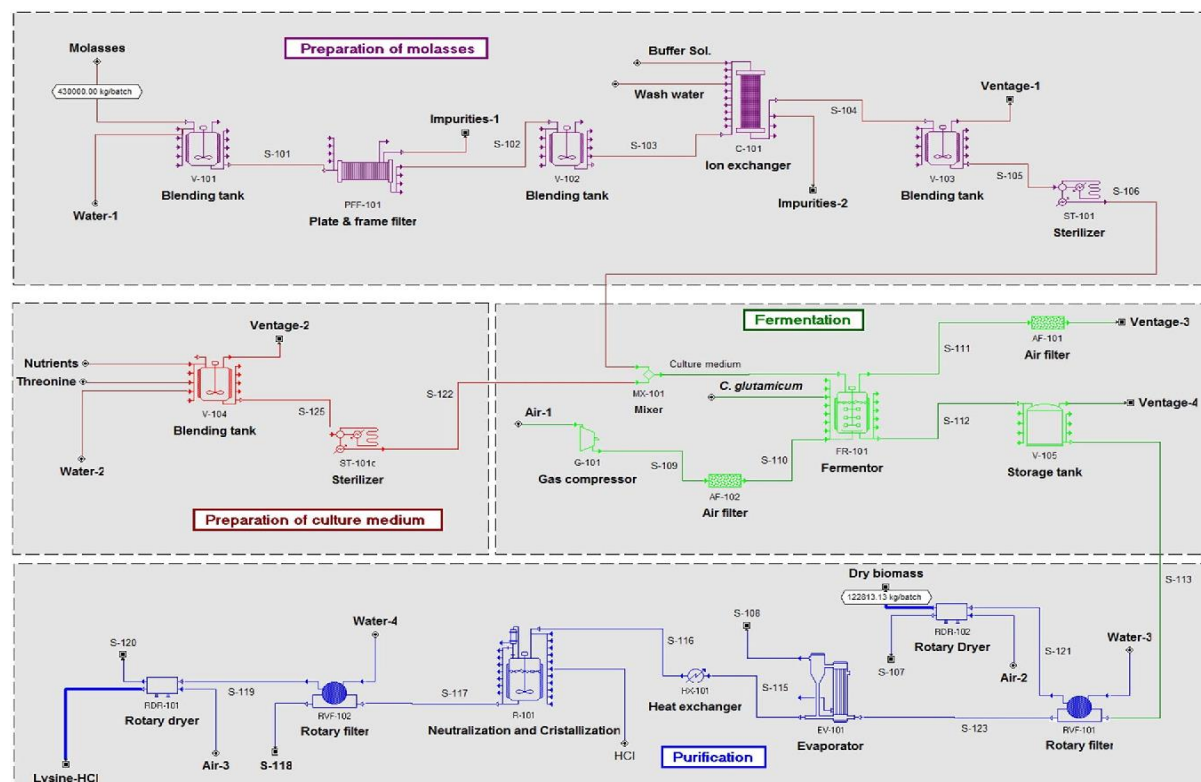
TEKNOLOGI FERMENTASI L-LISIN

Sejak tahun 1950, produksi asam amino dengan fermentasi telah menjadi teknologi penting mikrobiologi industri. Asam amino L-lisin diproduksi secara komersial dalam proses *batch*

atau *fedbatch*. Teknik umum yang digunakan yakni *Batch process* merupakan fermentasi dimana media dan inkulum dimasukkan bersamaan ke dalam bioreaktor, kemudian produk diambil pada akhir fermentasi. Sedangkan *fed-*

batch process adalah sistem dengan media baru ditambahkan secara berkala ke dalam kultur yang ditutup, tanpa dikeluarkannya cairan kultur yang sudah ada didalam fermentor. Seiring berjalannya waktu, volume kultur secara bertahap akan meningkat. Sistem *Fed-Batch* ialah pengembangan dari sistem batch, dimana terdapat penambahan media secara periodik, tetapi tanpa

mengeluarkan cairan kultur dan yield lebih tinggi dibandingkan dengan sistem *batch* [31]. Media fermentasi umum yang digunakan untuk produksi L-lisin mengandung berbagai sumber karbon dan nitrogen, ion organik dan elemen jejak (Fe^{++} , Mn^{++}), asam amino, vitamin (biotin, tiamin-HCl, Nicotinamide) dan banyak senyawa organik kompleks [32].



Gambar 3. Diagram Alir Proses Produksi Lysin di Industri [5]

Tidak ada media yang didefinisikan secara umum untuk produksi L-lisin oleh strain mikroba yang berbeda. Setiap mikroorganisme memiliki karakteristik fisik-kimiawi dan kebutuhan nutrisi yang berbeda untuk produksi L-lisin. Biaya formulasi medium L-lisin yang murah perlu diperhatikan, seperti produk samping agroindustri yaitu molase. Molase (gula tetes tebu) merupakan produk samping agroindustri yang dapat digunakan sebagai sumber karbon, karena mengandung sukrosa, glukosa dan fruktosa dengan kandungan karbohidrat total 50 sampai 60% [8]. Selain sumber karbon, sumber nitrogen pada produksi L-lisin merupakan komponen penting dalam media fermentasi. Satu molekul L-lisin mengandung dua gugus amida, maka untuk produksinya dibutuhkan sumber nitrogen dalam media fermentasi. Sumber nitrogen yang dapat

digunakan untuk produksi L-lisin adalah kalium nitrat, amonium sulfat, *corn steep liquor* (limbah produksi pati jagung), pepton, ekstrak ragi, dan urea. Amonium sulfat adalah sumber nitrogen terbaik untuk galur *Corynebacterium glutamicum*, *Escherichia coli* dan *Bacillus megaterium* [33] [19] [25]. Produksi L-lisin menggunakan strain *Escherichia coli* MU-1 dibutuhkan sekitar 57 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ untuk menjaga pH dan menyediakan ammonium untuk biosintesis L-lisin [19]. Pada penelitian lain melaporkan bahwa L-lisin yang difermentasi dalam medium yang mengandung 3% amonium sulfat menghasilkan L-lisin tertinggi, sedangkan penambahan amonium sulfat lebih lanjut menyebabkan penghambatan biosintesis lisin. Hal ini disebabkan oleh tekanan osmotik yang diberikan oleh sumber nitrogen tinggi dapat

mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme [34].

Proses produksi L-lisin terbagi menjadi empat tahapan, sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 3, melibatkan preparasi molase; penyediaan media kultur; proses fermentasi; dan proses pemurnian. Pada tahap preparasi molase melibatkan persiapan molase sebagai sumber karbon untuk mikroorganisme yang akan digunakan dalam fermentasi. Molase diencerkan dengan air melalui mixer (V-101). Kemudian sebagian pengotor dipisahkan dari larutan melalui penyaringan (PFF-101) dan sebagian pengotor lain dipisahkan menggunakan kolom kromatografi penukar ion (C-101). Setelah itu larutan disterilisasi (ST 101) untuk dicampur dengan media kultur (aliran S-122) dan ditambahkan ke dalam fermentor [5].

Preparasi media kultur dilakukan bersamaan dengan preparasi molase. Media kultur adalah lingkungan yang menyediakan nutrisi yang diperlukan oleh mikroorganisme yang digunakan dalam fermentasi untuk menghasilkan L-lisin. Pada bagian persiapan media kultur (Gambar 3) nutrisi dan treonin dicampur dan diencerkan dengan air dalam tangki (V-104). Kemudian larutan disterilkan menggunakan alat sterilisasi (ST-101) dan ditambahkan ke dalam fermentor (aliran S-122) [5].

Selanjutnya pada proses fermentasi, strain bakteri dimasukkan ke dalam fermentor bersamaan dengan molase dan media kultur yang telah disiapkan. Parameter fisik dan kondisi operasi untuk fermentasi, seperti kecepatan agitasi dan aerasi, suhu, dan komposisi media, harus memenuhi persyaratan pertumbuhan mikroba sesuai dengan hasil dinamis fermentor. Selama fermentasi, mikroorganisme menggunakan sumber karbon dari molase dan nutrisi lainnya untuk menghasilkan L-lisin melalui jalur metabolisme tertentu. Setelah fermentasi selesai, kaldu dibuang ke tangki yang berfungsi sebagai penyangga antara bagian fermentasi dan bagian pemurnian [5].

Pemurnian L-lisin merupakan faktor yang sangat mempengaruhi keefektifan proses fermentasi. Setelah fermentasi selesai, L-lisin yang dihasilkan masih tercampur dengan komponen lain dari media kultur. Tahap pemurnian melibatkan serangkaian proses untuk memisahkan dan membersihkan L-lisin dari komponen-komponen yang tidak diinginkan. L-lisin dipisahkan dan dimurnikan dengan proses hilir yang sesuai,

melibatkan metode pemisahan atau ekstraksi klasik (ultrafiltrasi atau sentrifugasi, pemisahan atau ekstraksi pertukaran ion, kristalisasi, pengeringan) menghasilkan kaldu fermentasi berupa bubuk, butiran atau pelet yang dimanfaatkan untuk mencukupi kebutuhan industri kimia, makanan dan farmasi [9]. Pada Gambar 3, pemurnian dimulai dengan penghilangan biomassa melalui filter putar (RVF-101). Selanjutnya, biomassa dikeringkan dengan menggunakan rotary dryer. Di sisi lain, evaporator (EV-101) digunakan untuk menghilangkan amonium hidroksida dan air dari aliran utama (S-123). Kemudian aliran didinginkan, lalu dinetralkan dan dimurnikan dalam crystallizer (R-101). Setelah larutan dengan kristal diperoleh, lalu dibawa ke filter putar (RVF-102) untuk menghilangkan kotoran dan padatan tersuspensi melalui pembilasan dengan air. Kristal yang dihasilkan dikeringkan dalam pengering semprot (RDR-101), sehingga diperoleh produk L-lisin HCl [5]. Produk sampingan yang dihasilkan selama fermentasi lisin tidak beracun dan memiliki nilai komersial yang tinggi [3].

Faktor yang Mempengaruhi Produksi Lisin

Produksi L-lisin telah dikembangkan untuk produksi asam amino skala besar. Parameter fisik seperti pH, agitasi, laju aerasi, saturasi udara, suhu, dan CO₂ terlarut, dan komposisi medium merupakan faktor yang sangat mempengaruhi produksi lisin [35].

Proses fermentasi L-lisin adalah proses aerobik, dimana pemeliharaan suplai oksigen yang optimal selama proses fermentasi sangat penting untuk hasil yang baik. Oksigen biasanya disuplai ke dalam reaktor melalui pompa udara [31]. Produksi L-lisin meningkat ketika oksigen terlarut dipertahankan pada saturasi 50%. Hal ini menunjukkan bahwa oksigen terlarut sangat mempengaruhi produktivitas L-lisin [36].

Suhu merupakan salah satu faktor krusial yang berpengaruh signifikan pada perkembangan mikroorganisme dan hasil akhir. Pemilihan suhu yang tepat dalam proses bioteknologi sangat penting untuk memastikan pertumbuhan optimal mikroorganisme dan produksi produk akhir yang diinginkan. Produksi maksimum L-lisin oleh *B. lactofermentum* dicapai pada suhu 35°C [36]. Ketika suhu media fermentasi dinaikkan, produksi L-lisin dan konsumsi karbohidrat oleh mikroorganisme menurun secara bertahap. Selama fermentasi perubahan suhu menyebabkan

perubahan keseluruhan dalam metabolisme sel dan juga mengubah pola pemanfaatan substrat yang menyebabkan nutrisi tidak seimbang dalam media sehubungan dengan laju pertumbuhan sel *C. glutamicum* [9]. Hal ini seperti yang dilaporkan oleh peneliti lain bahwa produksi L-lisin oleh *C. glutamicum* diperoleh konsentrasi lisin maksimum pada suhu 30°C. Fermentasi diatas suhu tersebut mengakibatkan penurunan produktivitas, yang menunjukkan bahwa peningkatan suhu yang kecil memiliki efek yang besar pada aktivitas seluler, seperti represi enzim metabolik [31].

pH medium merupakan faktor yang sangat penting dalam biosintesis metabolit sekunder mikroba. pH mempengaruhi karakteristik permeabilitas membran sel yang menyebabkan hilangnya ion dalam media nutrisi selama pertumbuhan mikroba. Oleh karena itu, pH dianggap sebagai faktor yang berpengaruh dari media kultur untuk pertumbuhan mikroba dan hasil produk. Komponen dasar, seperti kalium, natrium hidroksida, kalsium karbonat, amonia, urea dan asam anorganik digunakan untuk mengontrol pH dalam kultur media [25]. Produksi L-lisin maksimal oleh strain *Bacillus megaterium*; *Brevibacterium flavum*; dan *Corynebacterium glutamicum* diamati pada pH 7 [23] [25] [37].

Mikroorganisme memiliki waktu fermentasi tertentu di mana mikroorganisme tetap dapat hidup dan menghasilkan jumlah metabolit yang maksimal. Setelah waktu fermentasi tertentu, mikroorganisme mulai mati dan kuantitas produksi metabolit menurun ke jumlah yang signifikan [23]. Pada penelitian dengan kultur bakteri *Brevibacterium flavum* menggunakan variasi waktu fermentasi selama 15, 24, 48, 72, 96 dan 120 jam, diperoleh produksi L-lisin maksimum (67,8 g/l) dengan waktu fermentasi 24 jam. Setelah periode ini, fase penurunan kehidupan bakteri dimulai [23]. Penelitian lain dilakukan menggunakan variasi waktu fermentasi L-lisin oleh strain *Corynebacterium glutamicum* dengan meningkatnya waktu fermentasi antara 48 dan 72 jam, konsentrasi produk juga meningkat dari 12,3 menjadi 18,7 g/l. Setelah 72 jam, produk maksimum mencapai tren penurunan dan konsentrasi lisin menurun [31].

L-LISIN SEBAGAI ADITIF PAKAN

Penambahan lisin pada pakan dapat meningkatkan kualitas pakan, hal tersebut karena lisin sebagai aditif pakan pada kultivasi dapat memberikan manfaat dalam bentuk mempercepat

pertumbuhan dan memperpendek masa produksi, sehingga biaya operasional dapat ditekan. Dengan meningkatkan laju pertumbuhan, maka waktu yang dibutuhkan untuk mencapai fase akhir kultivasi dipercepat, hal ini tentunya dapat menurunkan biaya operasional dalam proses kultivasi secara signifikan [38]. Penambahan lisin pada pakan komersil telah terbukti efektif dalam meningkatkan retensi protein dan retensi energi seperti yang dilaporkan oleh Khalida, dkk [39] bahwa penambahan 1,2 % lisin ke dalam pakan dari jumlah pakan komersil dapat meningkatkan retensi protein dan energi ikan bawal air tawar (*Colossoma Macropomum*), artinya penambahan lisin dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan protein ikan bawal dan efisiensi penggunaan energi untuk pertumbuhan, metabolisme sehari-hari dan kegiatan pemeliharaan hidup ikan.

Penambahan lisin dalam ransum hewan ternak dapat berkontribusi untuk menurunkan kadar lemak dan kolesterol dalam daging. Lisin merupakan asam amino esensial yang penting untuk pertumbuhan hewan, dan penggunaannya dalam ransum dapat mempengaruhi metabolisme lemak. Lisin merupakan prekursor dalam biosintesis karnitin, yang diperlukan untuk proses β -oksidasi pada asam lemak rantai panjang di mitokondria. Peningkatan β -oksidasi lemak dapat mengurangi akumulasi lemak dan kolesterol dalam tubuh hewan ternak [40]. Namun penting untuk dicatat bahwa efek penambahan lisin terhadap kadar lemak dan kolesterol dapat bervariasi tergantung pada beberapa faktor, termasuk jenis hewan ternak, komposisi ransum secara keseluruhan, dan manajemen nutrisi yang diterapkan. Selain itu, perubahan dalam kadar lemak dan kolesterol juga dapat dipengaruhi oleh faktor genetik dan kondisi lingkungan. Pada penelitian Amiruddin, dkk [40] dilakukan suplementasi lisin hingga mencapai 0,15% dari total pakan, dan menghasilkan penurunan persentase lemak abdominal itik lokal jantan umur sepuluh minggu. Sedangkan Zhou, et al. [41] melaporkan bahwa kandungan lemak pada ikan *Black Seabream* juga cenderung menurun ketika kadar lisin ditingkatkan.

Penambahan lisin dalam ransum juga dapat mendukung absorpsi kalsium dalam pembentukan tulang, sehingga kebutuhan kalsium untuk pertumbuhan tulang dapat terpenuhi. Pertumbuhan tulang merupakan salah satu indikator penting dalam pertumbuhan ayam. Terdapat hubungan positif antara panjang tulang

dan bobot badan akhir dengan nilai korelasi sebesar 0,400. Hal ini menunjukkan bahwa ayam dengan tulang dimensi yang lebih panjang memiliki potensi untuk memiliki lebih banyak massa daging, sehingga tulang dengan panjang optimal dapat membantu mencapai bobot karkas yang lebih tinggi. Sebagai hasilnya, peningkatan kandungan lisin dalam pakan dapat memberikan kontribusi positif dalam mempercepat pertumbuhan tulang ayam, yang pada gilirannya dapat meningkatkan produktivitas ternak hasil panen [42]. Rizkuna, dkk [42] melaporkan bahwa penambahan lisin 0,8 % dengan taraf protein 17% dalam ransum ayam kampung menghasilkan pertambahan panjang tulang femur dan berat tulang femur. Funana, dkk [43] melaporkan bahwa penambahan lisin sebesar 0,70% pada pakan ayam boiler meningkatkan pertambahan panjang badan ($5,140 \pm 0,220$ cm/ekor), pertambahan lingkar dada ($8,945 \pm 0,314$ cm/ekor), pertambahan tinggi pundak ($6,293 \pm 0,205$ cm/ekor), pertambahan panjang tulang V dada ($39,149 \pm 2,449$ mm/ekor), pertambahan panjang tulang femur ($2,050 \pm 0,047$ cm/ekor) dan tulang tibia ($4,518 \pm 0,245$ cm/ekor).

Penambahan asam amino dalam ransum hewan ternak perlu memperhatikan keseimbangan asam amino secara keseluruhan. Asam amino merupakan komponen kunci dalam sintesis protein, dan keberadaan setiap asam amino esensial dan non esensial dalam jumlah yang seimbang sangat penting untuk mendukung pertumbuhan dan kesehatan hewan ternak. Jika satu atau beberapa asam amino ditambahkan dalam jumlah berlebih, dapat terjadi ketidakseimbangan relatif dalam ransum. Hal ini dapat menyebabkan gangguan pertumbuhan, metabolisme dan gangguan kesehatan. Hal yang perlu diperhatikan dalam penggunaan lisin sebagai aditif pakan adalah antagonisme antara lisin dan arginin. Kedua asam amino ini bersaing untuk masuk ke dalam sel melalui transporter yang sama di membran sel usus halus. Oleh karena itu, kelebihan lisin dapat menghambat penyerapan arginin, begitu pula sebaliknya [44]. Rasio lisin terhadap arginin dalam ransum dapat bervariasi tergantung pada spesies hewan ternak, tahap pertumbuhan atau produksi, serta tujuan produksi. Menurut *Nutrient Requirements of Poultry* dalam Permana dkk (2014) imbalances lisin dan arginin dalam ransum sebagai aditif tidak lebih dari 1,2 : 1.

KESIMPULAN

L-lisin dapat diproduksi melalui fermentasi menggunakan strain bakteri *Corynebacteria* gram positif. Proses fermentasi melibatkan mikroorganisme *Corynebacteria glutamicum* terbukti menghasilkan yield dan produktivitas yang lebih tinggi dibandingkan mikroorganisme lain dalam produksi L-lisin. L-lisin yang dihasilkan melalui teknologi fermentasi dapat diaplikasikan sebagai aditif pakan untuk meningkatkan kualitas nutrisi pakan dan mempengaruhi pertumbuhan dan kesehatan hewan. Artikel ini diharapkan dapat membantu para peneliti memahami perkembangan dan teknologi utama produksi L-lisin untuk penelitian dimasa depan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] M. Singh, D. M. Rao, S. Pande, S. Battu, M. K, K. R. Dutt and M. Ramesh, "Medicinal Uses of L-Lysine: Past and Future," *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*, vol. 2(4), pp. 637-642, 2011.
- [2] V. A. Ranjani, G. T. Rani, K. Menaka, B. Omkaraiah and B. Jayasree, "Production and Characterization of L-Lysine by Small Scale Laboratory Culture Method by Selected Microorganisms," *Journal of Pharma Research*, vol. 8, no. 6, 2019.
- [3] O. J. and E. I. A., "Screening for Lysine Production by Bacteria Isolated From Nigerian Soil," *World Wide Journal of Multidisciplinary Research and Development*, pp. 10-18, 2019.
- [4] L. Eggeling and M. Bott, "A giant market and a powerful metabolism: L-lysine provided by *Corynebacterium glutamicum*," *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015.
- [5] O. A. Reza and T. L. Arenas, "Comprehensive assessment of the L-lysine production process from fermentation of sugarcane molasses," *Bioprocess Biosyst Eng*, 2017.
- [6] B. S. Rao, Muralidhararao and AV.N.Swamy, "Studies on Continuous Production Kinetics of Lysine by Immobilized *Corynebacterium glutamicum* 13032," *Middle-east-Journal of Scientific Research*, pp. 235-240, 2011.

- [7] A. Yoshida, T. Tomita, T. Kuzuyama and M. Nishiyama, "Mechanism of Concerted Inhibition of α ," *Journal Of Biological Chemistry* $\alpha\beta_2$ - type Hetero-oligomeric Aspartat Kinase from *Corynebacterium glutamicum*, vol. 285, no. 35, pp. 27477-27486, 2010.
- [8] O. J. and E. I. A., "Studies on Lysine Accumulation in the Broth Culture of Bacillus Species using Carbohydrates as Carbon Sources and Seed Meals as Nitrogen Sources," *International Journal of Trend in Scientific Research and Development (IJTSRD)*, vol. 3, no. 2, pp. 760-772, 2019.
- [9] M. Anusree and K. M. Nampoothiri, "Biosynthesis, recovery and purification of L-lysine from jackfruit seed (JFS) hydrolysate by *Corynebacterium glutamicum* DM 1729," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnolog*, 2015.
- [10] J. Cheng, Y. Huang, L. Mi, W. Chen, D. Wang and Q. Wang, "An economically and environmentally acceptable synthesis of chiral drug intermediate l-pipecolic acid from biomass-derived lysine via artificially engineered microbes," *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2018.
- [11] K. Hua, "Investigating the appropriate mode of expressing lysine requirement of fish through non-linear mixed model analysis and multilevel analysis.," *British Journal of Nutrition*, vol. 109, p. 1013–1021, 2013.
- [12] S. F. Liao, T. Wang and N. Regmi, "Lysine nutrition in swine and the related monogastric animals: muscle protein biosynthesis and beyond," *Springerplus*, 2015.
- [13] E. Aristasari, R. A. N. 'Aini, W. Nopita, Agustono, M. Lamid and M. A. Al-Arif, "The growth, protein content, and fatty acid of catfish meat (*pangasius* sp.) With the addition of different lysine doses in commercial feed," *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, p. 441, 2020.
- [14] C. J. Hall and T. P. S. d. Costa, "Lysine: biosynthesis, catabolism and roles," *WikiJournal of Science*, vol. 1, no. 1, 2018.
- [15] K. Ivanov, A. Stoimenova, D. Obreshkova and L. Saso, "Biotechnology in the Production of Pharmaceutical Industry Ingredients: Amino Acids," *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, pp. 3620-3626, 2013.
- [16] F. Pérez-García, P. Peters-Wendisch and V. F. Wendisch, "Engineering *Corynebacterium glutamicum* for fast production of L-lysine and L-pipecolic acid," *Appl Microbiol Biotechnol*, p. 8075–8090, 2016.
- [17] J. Xu, M. Han, J. Zhang, Y. Guo and W. Zhang, "Metabolic engineering *Corynebacterium glutamicum* Metabolic engineering *Corynebacterium glutamicum* flux into L-lysine biosynthetic pathway," *Amino Acids*, p. 2165–2175, 2014.
- [18] J.-Z. Xu, Z.-H. Wu, S.-J. Gao and W. Zhang, "Rational modification of tricarboxylic acid cycle for improving L-lysine production in *Corynebacterium glutamicum*," *Microb Cell Fact*, 2018.
- [19] Y. Wang, Q. Li, P. Zheng, Y. Guo, L. Wang, T. Zhang, J. Sun and Y. Ma, "Evolving the L-lysine high-producing strain of *Escherichia coli* using a newly developed high-throughput screening method," *J Ind Microbiol Biotechnol*, 2016.
- [20] J. Becker, O. Zelder, S. Häfner, H. Schröder and C. Wittmann, "From zero to hero--design-based systems metabolic engineering of *Corynebacterium glutamicum* for L-lysine production," *Metab Eng*, vol. 13, no. 2, pp. 159-168, 2011.
- [21] H. Ying, X. He, Y. Li, K. Chen and P. Ouyang, "Optimization of Culture Conditions for Enhanced Lysine Production Using Engineered *Escherichia coli*," *Appl Biochem Biotechnol*, pp. 35-43, 2014.
- [22] J. z. Xu, M. Han, X. Ren and W. Zhang, "Modification of aspartokinase III and dihydrodipicolinate synthetase increases the production of l-lysine in *Escherichia coli*," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 114, pp. 79-86, 2016.
- [23] A. Javed, A. Javed and S. Rezaei-Zarchi, "Optimization and hyper-expressed production of lysine through chemical mutagenesis of *Brevibacterium flavum* by N-nitroso-N-ethylurea," *African Journal of Microbiology Research*, vol. 5, no. 29, pp. 5230-5238, 2011.

- [24] A. I. El-Batal and R. Al-Habib, "Production of L-lysine by *Brevibacterium lactofermentum* and its application in ecofriendly synthesis of gold nanoparticles using gamma radiation," *Journal of Food Agriculture and Environment*, vol. 12, no. 2, pp. 141-149, 2014.
- [25] A. Hussein, H. Mukhtar and I. U. Haq, "Biosynthesis of L-Lysine by *Bacillus Megaterium* Through Submerged Fermentation," *Pak. J. Bot.*, pp. 2183-2189, 2020.
- [26] F. Fazius, E. Shelest, P. Gebhardt and M. Brock, "The fungal α -aminoacidipate pathway for lysine biosynthesis requires two enzymes of the aconitase family for the isomerization of homocitrate to homoisocitrate," *Molecular Microbiology*, vol. 86, no. 6, p. 1508–1530, 2012.
- [27] Y. Liu, S. Xie and J. Yu, "Genome-Wide Analysis of the Lysine Biosynthesis Pathway Network during Maize Seed Development," *PLOS ONE*, 2016.
- [28] H.-Y. Sagong and K.-J. Kim, "Structural basis for redox sensitivity in *Corynebacterium glutamicum* diaminopimelate epimerase: an enzyme involved in l-lysine biosynthesis," *Scientific Reports*, 2017.
- [29] J.-Z. Xu, H.-Z. Ruan, L.-M. Liu, L.-P. Wang and W.-G. Zhang, "Overexpression of thermostable meso-diaminopimelate dehydrogenase to redirect diaminopimelate pathway for increasing L-lysine production in *Escherichia coli*," *Scientific Reports*, 2019.
- [30] B. Vanasi, L. Eppakayala and R. Malothu, "L Lysine Production by Chemical Mutagenesis of Homoserine Dehydrogenase of DDH Gene in *Corynebacterium glutamicum* ATCC13032," *Rasayan J. Chem*, vol. 13, no. 1, pp. 1245-1261, 2020.
- [31] M. A. Razak and B. Viswanath, "Optimization of fermentation upstream parameters and immobilization of *Corynebacterium glutamicum* MH 20-22 B cells to enhance the production of L-lysine," *3 Biotech*, 2014.
- [32] T. Ilkova and M. Petrov, "L-lysine Neuro-Dynamic Optimal Control," *Global Journal of Medical research*, vol. 11, no. 4, 2011.
- [33] Hussain, Amjed, H. Mukhtar and Ikram-Ul-Haq, "Optimization of Fermentation Medium for L-Lysine Production by *Corynebacterium glutamicum*," *Pak. J. Bot.*, pp. 345-349, 2015.
- [34] A. I. El-Batal and R. Al-Habib, "Production of L-lysine by *Brevibacterium lactofermentum* and its application in ecofriendly synthesis of gold nanoparticles using gamma radiation," *Journal of Food, Agriculture & Environment*, vol. 12, no. 2, pp. 141-149, 2014.
- [35] K. A. Abou-taleb, "In addition to physical parameters like pH, agitation and spp. Using Batch and Fed-batch Fermentation spp. Using Batch and Fed-batch Fermentation spp. Using Batch and Fed-batch Fermentation Strategies," *British Microbiology Research Journal*, pp. 257-272, 2015.
- [36] S. Ahmed, M. Afzal and M. I. Rajoka, "Kinetic and thermodynamic characterization of lysine production process in *Brevibacterium lactofermentum*," *Appl Biochem Biotechnol*, p. 81–90, 2013.
- [37] J.-Z. Xu, H.-Z. Ruan, H.-B. Yu, L.-M. Liu and W. Zhang, "Metabolic engineering of carbohydrate metabolism systems in *Corynebacterium glutamicum* for improving the efficiency of L-lysine production from mixed sugar," *Microb Cell Fact*, pp. 19-39, 2020.
- [38] D. Rachmawati, Sarjito, P. Y. Anwar and S. Windarto, "Pengaruh Penambahan Asam Amino Lisin pada Pakan Komersil terhadap Efisiensi Pemanfaatan Pakan, Pertumbuhan, dan Kelulushidupan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*)," *Jurnal Kelautan Tropis*, vol. 23, pp. 388-396, 2020.
- [39] A. Khalida, Agustono and W. Paramita, "Penambahan Lisin Pada Pakan Komersial Terhadap Retensi Protein dan Retensi Energi Ikan Bawal Air Tawar (*Colossoma Macropomum*)," *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, pp. 98-107, 2017.
- [40] B. N. K. Amiruddin, Sudiyono and A. Ratriyanto, "Pengaruh Suplementasi Lisin terhadap Karakteristik Karkas Itik Lokal Jantan Umur Sepuluh Minggu," *Sains Peternakan*, vol. 9 (1), pp. 15-19, 2011.

- [41] F. Zhou, Q.-j. Shao, J.-x. Xiao, X. Peng, B.-O. Ngandzali, Z. Sun and W.-K. Ng, "Effects of dietary arginine and lysine levels on growth performance, nutrient utilization and tissue biochemical profile of black sea bream, *Acanthopagrus schlegelii*, fingerlings," *Aquaculture*, p. 72–80, 2011.
- [42] A. Rizkuna, U. Atmomarsono and D. Sunarti, "Evaluasi Pertumbuhan Tulang Ayam Kampung Umur 0-6 Minggu dengan Taraf Protein dan Suplementasi Lisin dalam Ransum," *JITP*, pp. 121-125, 2014.
- [43] R. Funana, C. V. Lisnahan and A. A. Dethan, "Profil Pengaruh Suplementasi L-Lysine HCl dalam Pakan terhadap Dimensi Tubuh Ayam Broiler," *Journal of Animal Science*, vol. 5, no. 4, p. 61–63, 2020.
- [44] P. A. Permana, V. D. Yunianto and U. Atmomarsono, "Pengaruh Taraf Protein dan Lisin Ransum Terhadap Performans Produksi Ayam Kampung," *Animal Agriculture Journal*, pp. 113-120, 2014.
- [45] A. F. Tantri, B. S. Rahardja and Agustono, "Penambahan Lisin Pada Pakan Komersial Terhadap Retensi Protein dan Retensi Energi Udang Galah (*Macrobrachium rosenbergii*)," *Journal of Aquaculture and Fish Health*, vol. 5, pp. 36-42, 2016.
- [46] I. N. A. B. Dita, N. K. S. Rukmini and N. M. Yudiastari, "The Effect of Amino Acids Lysine and Methionine on the Carcass of Native Chickens," *SEAS (Sustainable Environment Agricultural Science)*, vol. 4, pp. 157-161, 2020.
- [47] R. Venkatesha, K. Srinivasan and S. A. Singh, "Effect of arginine:lysine and glycine:methionine intake ratios on dyslipidemia and selected biomarkers implicated in cardiovascular disease: A study with hypercholesterolemic rats," *Biomedicine & Pharmacotherapy* 91, p. 408–414, 2017.
- [48] X. Wang, L. Yang, W. Cao, H. Ying, K. Chen and P. Ouyang, "Efficient Production of Enantiopure D-Lysine from L-Lysine by a Two-Enzyme Cascade System," *Catalysts*, 2016.
- [49] J. Xu, J. Zhang, Y. Guo, Y. Zai and W. Zhang, "Improvement of cell growth and L-lysine production by genetically modified *Corynebacterium glutamicum* during growth on molasses," *J Ind Microbiol Biotechnol*, vol. 40, no. 14, pp. 23-32, 2013.