

**ANALISIS SENSITIVITAS KINETIKA ENZIM PADA
MODEL TERSTRUKTUR PERTUMBUHAN SEL
RAGI *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* MELALUI
*METABOLIC CONTROL ANALYSIS***

SKRIPSI



WAHYU IQBAL MAULANA

H011171014

**PROGRAM STUDI MATEMATIKA
DEPARTEMEN MATEMATIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
JULI 2022**

**ANALISIS SENSITIVITAS KINETIKA ENZIM PADA
MODEL TERSTRUKTUR PERTUMBUHAN SEL
RAGI *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* MELALUI
*METABOLIC CONTROL ANALYSIS***

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
pada Program Studi Statistika Departemen Matematika Fakultas
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin**

WAHYU IQBAL MAULANA

H011171014

**PROGRAM STUDI MATEMATIKA
DEPARTEMEN MATEMATIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN**

MAKASSAR

JULI 2022

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wahyu Iqbal Maulana
NIM : H011171014
Program Studi : Matematika
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**Analisis Sensitivitas Kinetika Enzim Pada Model Pertumbuhan Sel Ragi
Saccharomyces Cerevisiae Melalui *Metabolic Control Analysis***

adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 6 Juli 2022

Yang menyatakan,



Wahyu Iqbal Maulana
H011171014

LEMBAR PENGESAHAN

**ANALISIS SENSITIVITAS KINETIKA ENZIM PADA MODEL
TERSTRUKTUR PERTUMBUHAN SEL RAGI
SACCHAROMYCES CEREVISIAE MELALUI *METABOLIC
CONTROL ANALYSIS***

Disusun dan diajukan oleh

WAHYU IQBAL MAULANA

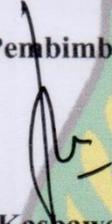
H011171014

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Matematika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin pada tanggal, 6 Juli 2022 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan.

Menyetujui,

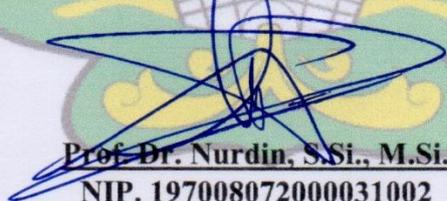
Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,


Dr. Kashawati, S.Si., M.Si.
NIP. 198009042003122001


Dra. Nur Erawaty, M.Si.
NIP. 196909121993032001

Ketua Program Studi,


Prof. Dr. Nurdin, S.Si., M.Si.
NIP. 197008072000031002



KATA PENGANTAR

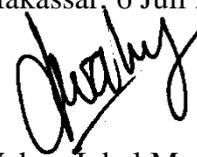
Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah Subhanahu Wa Ta'ala, karena atas berkat rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Shalawat dan salam penulis kirimkan kepada Nabi Muhammad Shallallahu'alaihi Wa Sallam. Adapun judul skripsi yang saya ajukan adalah "Analisis Sensitivitas Kinetika Enzim pada Model Terstruktur Pertumbuhan Sel Ragi *Saccharomyces cerevisiae* Melalui *Metabolic Control Analysis*". Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains (S.Si) di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar. Saya menyadari bahwa, skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan terima kasih yang setulus-tulusnya kepada:

1. Keluarga penulis, ayahanda **Hambali**, ibunda **Siti Aminah**, abangda **Didik Johan Pratama**, kakanda **Nurul Rachma** dan adinda **Rizka Nurhidayah Putri** atas segala doa dan dukungannya baik secara moril maupun finansial sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Bapak **Dr. Eng. Amiruddin, M.Si.**, selaku Dekan fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta jajarannya
3. Bapak **Prof. Dr. Nurdin, M.Si.**, selaku ketua Departemen Matematika Universitas Hasanuddin yang senantiasa mendidik, memberi nasehat dan motivasi.
4. Ibu **Dr. Kasbawati, S.Si., M.Si.**, selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga dan pikiran untuk mengarahkan saya dalam menyusun skripsi ini.
5. Ibu **Dra. Nur Erawaty, M.Si.**, selaku pembimbing yang selama ini memberikan banyak masukan dan dukungan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak **Prof. Dr. Budi Nurwahyu, MS.** selaku penasehat akademik sekaligus dosen pembimbing yang selama ini senantiasa mendidik, memberi masukan dan dukungan serta nasehat dan motivasi.
7. Dosen penguji skripsi, bapak **Prof. Dr. Budi Nurwahyu, MS.**, dan bapak **Dr. Khaeruddin, M.Sc.**, telah memberikan masukan, kritik dan saran yang membangun untuk kebaikan penulis dan perbaikan skripsi ini.
8. Bapak, Ibu Dosen dan Staff Administrasi program studi Matematika Universitas Hasanuddin yang telah memberikan banyak ilmu, banyak memberikan dukungan dan membantu mengurus kelancaran studi.

9. Bapak **Andi Muhammad Anwar, S.Si., M.Si** dan anggota PKM jurusan Matematika yang telah memberikan banyak ilmu dan pencerahan dan motivasi belajar dalam membantu mengurus kelancaran studi.
10. Bapak **Iswan** selaku staff administrasi yang banyak memberikan dukungan serta memberikan tempat belajar yang nyaman
11. Saudara dan saudariku selama perkuliahan **Abrian, Harry, Farah, Teka, Dilla, Cahyu**, dan seluruh teman-teman **Math17** yang telah memberi semangat dan pencerahan serta menjadi tempat berbagi ilmu dan juga cerita. Semoga kita semua diberikan kelancaran dalam menyelesaikan segala urusan terkait tugas akhir. Aamiin.
12. Ustadz **Zaenal** selaku Murobbi yang senantiasa memberikan ilmu, khususnya ilmu agama dan juga motivasi kepada penulis.
13. Kakanda **Jumardin, S.Si., M.Si.** dan kakanda **Yasmin, SE.** yang senantiasa memberikan masukan, motivasi serta tempat berbagi cerita, keluh kesah selama perkuliahan.
14. Saudara-saudara penghuni Mesjid Al Nur **Fadil, Riswal, Iwan** serta halaqoh Tarbiyah KKI **Yahya Bin Ma'in 6** dan teman-teman yang tidak bisa saya sebutkan namanya satu persatu yang telah mendoakan dan mendampingi serta menghibur penulis dari awal perkuliahan sampai terselesaikannya skripsi ini.

Akhir kata, saya berharap Tuhan Yang Maha Esa berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu.

Makassar, 6 Juli 2022



Wahyu Iqbal Maulana

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Hasanuddin, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wahyu Iqbal Maulana
NIM : H011171014
Program Studi : Matematika
Departemen : Matematika
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Hasanuddin **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty- Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul:

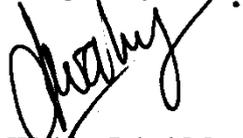
**Analisis Sensitivitas Kinetika Enzim Pada Model Pertumbuhan Sel Ragi
Saccharomyces Cerevisiae Melalui *Metabolic Control Analysis***

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Terkait dengan hal di atas, maka pihak universitas berhak menyimpan, mengalih-media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya,

Dibuat di Makassar pada tanggal 6 Juli 2022

Yang menyatakan,



Wahyu Iqbal Maulana

ABSTRAK

Terdapat beberapa organisme yang berperan dalam fermentasi. Salah satu contoh organisme yang berperan dalam fermentasi etanol adalah sel ragi (*Saccharomyces cerevisiae*). Proses fermentasi yang terjadi di dalam sel ragi melibatkan beberapa enzim untuk mengubah glukosa menjadi etanol secara terstruktur dan sistematis. Pada penelitian ini digunakan model terstruktur dari sistem metabolisme pusat dalam sel ragi yang telah dibangun oleh peneliti sebelumnya. Model tersebut dianalisis dengan tujuan untuk menentukan enzim yang memiliki sensitivitas tinggi melalui *metabolic control analysis*. Hasil analisis menunjukkan bahwa proses glikolisis memiliki nilai koefisien kontrol positif yang terbesar, yaitu 1.214 sedangkan enzim asetaldehid dehidrogenase memiliki nilai koefisien kontrol negatif yang terbesar, yakni -1.2486 . Hasil simulasi memperlihatkan bahwa dengan meningkatkan proses glikolisis sebesar 50% dapat menaikkan produksi etanol sebesar 65.2% sedangkan menurunkan reaksi enzim asetaldehid dehidrogenase sebesar 50% mengakibatkan konsentrasi etanol meningkat sampai 158.7%.

Kata kunci: Model terstruktur, kinetika enzim, *Saccharomyces cerevisiae*, *metabolic control analysis*

ABSTRACT

There are several organisms that play a role in fermentation. One example of an organism that plays a role in ethanol fermentation is yeast cells (*Saccharomyces cerevisiae*). The fermentation process that occurs in yeast cells involves several enzymes to convert glucose into ethanol in a structured and systematic manner. In this study, a structured model of the central metabolic system in yeast cells was used which was developed by previous researchers. The model was analyzed with the aim of determining enzymes that have high sensitivity through *metabolic control analysis*. The results of the analysis show that the glycolysis process has the largest positive control coefficient value, which is 1.214 while the acetaldehyde dehydrogenase enzyme has the largest negative control coefficient value, which is -1.2486 . The simulation results show that increasing the glycolysis process by 50% can increase the ethanol production by 65.2%, while decreasing the reaction rate of the acetaldehyde dehydrogenase enzyme by 50% causes the ethanol concentration to increase up to 158.7%.

Keywords: Structured model, enzyme kinetics, *Saccharomyces cerevisiae*, *metabolic control analysis*

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR NOTASI	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	3
1.5 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penelitian Terdahulu.....	5
2.2 Sistem Metabolisme	7
2.3 Kinetika Michelis-Menten.....	8
2.4 Model Terstruktur.....	12
2.5 Model Terstruktur Pertumbuhan Sel Ragi <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ...	13
2.6 Sistem Persamaan Diferensial	20
2.7 Titik Kesetimbangan	22

2.8	Kestabilan Titik Keseimbangan Sistem Persamaan Diferensial	22
2.9	Matriks Stoikiometri.....	26
2.10	Rank dan Nulitas Matriks	27
2.11	<i>Metabolic Control Analysis</i>	28
2.11.1	Koefisien Elastisitas	29
2.11.2	Koefisien Kontrol.....	30
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN.....		34
3.1	Alur Penelitian.....	34
BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN.....		36
4.1	Titik Keseimbangan Model.....	39
4.2	Linearisasi Sistem.....	45
4.3	Kestabilan Titik Keseimbangan Sistem	48
4.4	Analisis Sensitivitas melalui <i>Metabolic Control Analysis</i>	51
4.5	Simulasi Numerik Model Terstruktur <i>S. cerevisiae</i>	59
BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN.....		65
5.1	Kesimpulan.....	65
5.2	Saran.....	66
Daftar Pustaka		67
Lampiran		69

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Fermentasi Etanol.....	8
Gambar 2. 2 Mekanisme reaksi enzim invertase (Klipp dkk, 2005).....	8
Gambar 2. 3 Interpretasi Kinetika Michaelis-Menten.....	10
Gambar 2. 4 Mekanisme reaksi enzim yang bolak-balik (Klipp dkk, 2005).	11
Gambar 2. 5 Berbagai tipe model pertumbuhan sel (Miyanaga dan Unno, 2011).13	
Gambar 2. 6 Sistem Metabolisme Sel Ragi (Lei dkk, 2001).	14
Gambar 2. 7 Contoh Jaringan Reaksi (Hofmeyr, 2001).....	31
Gambar 3. 1 Diagram Alur Penelitian.....	35
Gambar 4. 1 Diagram metabolisme utama dalam <i>S. cerevisiae</i> (Lei dkk, 2001)..	36
Gambar 4. 2 Diagram Metabolisme Pusat (<i>Central Metabolism</i>) sel ragi dengan nilai koefisien kontrol setiap reaksi.....	58
Gambar 4. 3 Perilaku konsentrasi etanol dengan meregulasi laju reaksi v_1	60
Gambar 4. 4 Perilaku konsentrasi etanol dengan meregulasi laju reaksi v_4	60
Gambar 4. 5 Perilaku konsentrasi etanol dengan meregulasi laju reaksi v_2	61
Gambar 4. 6 Perilaku konsentrasi etanol dengan meregulasi laju reaksi v_3	61
Gambar 4. 7 Perilaku konsentrasi etanol dengan meregulasi laju reaksi v_6	62
Gambar 4. 8 Konsentrasi etanol dengan beberapa regulasi	63

DAFTAR TABEL

Tabel 4. 1 Deskripsi variabel model.	38
Tabel 4. 2 Nilai parameter model (Lei dkk, 2001).....	38
Tabel 4. 3 Jumlah akar positif yang mungkin dari Persamaan (4.7).....	40
Tabel 4. 4 Jumlah akar positif yang mungkin dari Persamaan (4.8).....	42
Tabel 4. 5 Jumlah akar positif yang mungkin dari Persamaan (4.9).....	43
Tabel 4. 6 Jumlah akar positif yang mungkin dari Persamaan (4.10).....	44
Tabel 4. 7 Bentuk eselon baris tereduksi matriks NI	54
Tabel 4. 8 Koefisien Elastisitas.....	56
Tabel 4. 9 Koefisien kontrol untuk etanol (s_5) dan fluks etanol (J_{12}).....	56
Tabel 4. 10 Hasil regulasi beberapa enzim.	62

DAFTAR NOTASI

V_{max}	: Laju reaksi maksimum ($g\ l^{-1}\ h^{-1}$)
K_m	: Konstanta Michelis-Menten ($g\ l^{-1}$)
v_j	: Kinetika laju reaksi ke- j ($g\ l^{-1}\ h^{-1}$)
s_j	: Konsentrasi metabolit atau substrat ke- j ($g\ l^{-1}$)
S_f	: Konsentrasi glukosa masukan ($g\ l^{-1}$)
D	: Laju pengenceran (h^{-1})
k_j	: Konstanta laju reaksi ke- j ($g\ l^{-1}\ h^{-1}$)
K_j	: Konstanta afinitas reaksi ke- j ($g\ l^{-1}$)
K_{ji}	: Konstanta inhibitor reaksi ke- j ($l\ g^{-1}$)
N	: Matriks Stoikiometri
K	: Matriks kernel
J	: Fluks (Laju reaksi saat kondisi <i>steady state</i>) ($g\ l^{-1}\ h^{-1}$)
J_{id}	: Fluks (Laju reaksi saat kondisi <i>steady state</i>) bebas ($g\ l^{-1}\ h^{-1}$)
D_J	: Matriks diagonal fluks
D_{Jid}	: Matriks diagonal fluks bebas
\mathcal{K}	: Matriks kernel yang dinormalisasi
I	: Matriks identitas
M_ε	: Matriks elastisitas
$\varepsilon_{s_i}^{v_k}$: Koefisien elastisitas laju reaksi ke- k terhadap substrat ke- i
C_J	: Matriks kontrol fluks
C_s	: Matriks kontrol substrat
$C_{v_k}^{s_5} (C_{v_k}^{J_{12}})$: Koefisien kontrol laju reaksi ke- k terhadap konsentrasi etanol (fluks etanol)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Secara umum, fermentasi adalah cara memproduksi energi kimia dengan menggunakan oksigen namun terbatas. Dengan kata lain, fermentasi terjadi tanpa respirasi selular (Campbell, dkk, 2008). Beberapa organisme yang melakukan fermentasi diantaranya adalah bakteri dan protista yang hidup di rawa, lumpur, makanan yang diawetkan atau tempat-tempat yang lain yang minim mengandung oksigen. Glukosa merupakan substrat pada awal fermentasi. Glukosa dipecah menjadi 2 molekul piruvat, 2 NADH, dan terbentuk 2 ATP. Piruvat yang merupakan hasil pemecahan glukosa ($C_6H_{12}O_6$) dari proses glikolisis akan diolah menjadi asetaldehid. Kemudian NADH memberikan elektron dan hidrogen kepada asetaldehida, sehingga terbentuk produk akhir alkohol, yaitu etanol (C_2H_5OH). Inilah yang dinamakan Fermentasi alkohol atau lebih sering disebut fermentasi etanol dilakukan oleh jamur ragi (*yeast*) dengan nama latin *Saccharomyces cerevisiae*. *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) merupakan jamur bersel tunggal dan termasuk organisme eukariotik yang banyak dipelajari dalam biologi molekuler dan sel. (Aryulina, Muslim, Manaf, & Winarni, 2007).

Ketika fermentasi terjadi dalam sel ragi *Saccharomyces cerevisiae*, terdapat suatu zat yang berperan dalam proses perubahan suatu substrat menjadi substrat lain atau produk. Zat tersebut dinamakan enzim. Dalam mengubah suatu substrat, setiap enzim memiliki kinetika masing-masing. Kinetika enzim adalah suatu cabang ilmu yang mempelajari faktor-faktor yang mempengaruhi laju reaksi sebagai akibat dari katalisis oleh enzim. Faktor-faktor yang dimaksud adalah konsentrasi enzim, reaktan, produk, dan konsentrasi setiap pengubah seperti aktivator tertentu, inhibitor, pH, kekuatan ion, dan suhu (Sauro, 2013). Secara teoritis, perubahan substrat dan kinetika enzim dalam fermentasi dapat dinyatakan dalam model matematis yang diistilahkan model terstruktur. Model terstruktur adalah model yang memberikan informasi tentang keadaan fisiologis, komposisi dan regulasi adaptasi mikroorganisme terhadap lingkungannya (Schügerl & Bellgardt, 2000). Dikatakan model terstruktur karena pemodelan proses konversi suatu zat menjadi zat lain harus berurutan dan terstruktur yang melibatkan berbagai kinetika enzim,

misalnya pengubahan glukosa menjadi piruvat dalam proses fermentasi. Hal yang menarik pada model terstruktur ini adalah dapat diketahui tingkat sensitivitas dari masing-masing kinetika enzim sehingga produk yang dihasilkan dapat dimaksimalkan. Inilah yang dinamakan dengan analisis sensitivitas. Analisis sensitivitas adalah suatu cara yang digunakan untuk mengukur dampak ketidakpastian dari satu atau beberapa parameter yang menyebabkan perubahan terhadap keluarannya. Analisis sensitivitas juga berguna untuk mengetahui respon model terhadap perubahan suatu variabel input dalam rangka memperbaiki hasil prediksi dari suatu model (Pichery, 2014).

Beberapa peneliti telah membangun model terstruktur untuk sel ragi. *Study review* terkait dengan hal ini disajikan secara lengkap dan menyeluruh di bagian tinjauan pustaka. Sebagai contoh, Lei, dkk (2001) telah membentuk suatu model terstruktur yang cukup kompleks dari sel ragi *S. cerevisiae* berdasarkan data eksperimen. Dalam penelitiannya, model yang telah dibangun digunakan untuk mensimulasikan pertumbuhan aerobik dan perubahan metabolit dari sel ragi. Hal yang membedakan model yang dibangun oleh Lei dkk dengan yang lain adalah pemodelan kinetika enzim dengan multi substrat dan memasukkan faktor inhibitor, sehingga penulis tertarik untuk mengetahui tingkat sensitivitas kinetika enzim mana yang dapat memaksimalkan etanol sebagai produk yang memiliki nilai ekonomis melalui *metabolic control analysis* pada model yang telah dibangun oleh Lei, dkk (2001). *Metabolic control analysis* (MCA) pertama kali diperkenalkan tahun 1984 sebagai gabungan dari hasil pendekatan oleh Kacser dan Burns (1973) dan oleh Heinrich and Rapoport (1974) (Fell, 1992). Menurut (Hofmeyr, 2001), MCA adalah suatu kerangka kerja kuantitatif yang berguna untuk memahami hubungan antara sifat *steady state* dari jaringan reaksi biokimia secara keseluruhan berkaitan dengan sifat-sifat dari reaksi-reaksinya.

Berangkat dari hal tersebut, penelitian ini akan dituangkan dalam skripsi yang berjudul

“Analisis Sensitivitas Kinetika Enzim pada Model Terstruktur Pertumbuhan Sel Ragi *Saccharomyces cerevisiae* melalui *Metabolic Control Analysis*”.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka masalah yang akan dibahas pada skripsi ini adalah sebagai berikut:

- 1) Bagaimana menentukan titik kesetimbangan yang positif dari model terstruktur pertumbuhan sel ragi?
- 2) Bagaimana menentukan kestabilan dari titik kesetimbangan yang positif model terstruktur sel ragi?
- 3) Bagaimana menentukan enzim dengan tingkat sensitivitas yang tinggi terhadap perubahan konsentrasi dan fluks etanol pada model terstruktur sel ragi *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan *metabolic control analysis*?

1.3 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah sistem yang dimodelkan adalah sistem metabolisme utama dari sel ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan mempertimbangkan model kinetika enzim multi substrat yang telah dibangun oleh Lei, dkk (2001).

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah disebutkan, maka tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1) Menentukan titik kesetimbangan positif dari model terstruktur pertumbuhan sel ragi.
- 2) Menganalisis kestabilan titik kesetimbangan dari model terstruktur pertumbuhan sel ragi.
- 3) Menganalisis sensitivitas kinetika enzim melalui *metabolic control analysis* pada model terstruktur sel ragi *Saccharomyces cerevisiae*.
- 4) Melakukan simulasi numerik untuk memvalidasi hasil yang diperoleh terkait sensitivitas kinetika enzim dalam proses fermentasi untuk memaksimalkan produk yang diharapkan.

1.5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah memahami peranan matematika pada bidang kimia khususnya dalam masalah fermentasi dan

diharapkan menjadi referensi untuk eksperimen dalam fermentasi etanol dengan tujuan menghasilkan produksi etanol yang maksimal.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penelitian Terdahulu

Pada bagian ini akan dipaparkan beberapa penelitian yang terkait dengan penelitian yang akan dilaksanakan. Bagian ini berisi tentang ulasan mengenai kajian-kajian yang telah dilakukan oleh peneliti terdahulu dan masih memiliki hubungan dengan penelitian yang akan dilaksanakan.

Beberapa peneliti telah meneliti dan membangun model terstruktur pertumbuhan sel ragi diantaranya adalah Cortassa dan Aon (1994), Lei, dkk (2001), Cronwright, dkk (2002), Kasbawati, dkk (2015) dan Kasbawati, dkk (2019). Dalam penelitiannya, Cortassa dan Aon (1994) telah memodelkan secara khusus proses glikolisis yang terjadi dalam sel ragi dan terbagi menjadi 2 model. Kedua model tersebut, yaitu model pengambilan glukosa yang dianggap bergantung pada ATP dan glukosa ekstraseluler (model I) atau bergantung pada glukosa 6-fosfat (model II) kemudian dianalisis dengan menggunakan *metabolic control analysis*. Berbeda dengan penelitian Lei, dkk (2001), dimana model terstruktur yang telah dibangun dengan pendekatan yang berbeda yaitu memandang glikolisis hanya sebuah reaksi. Bukan hanya itu, kinetika enzim yang dimodelkan juga melibatkan multi substrat dan memasukkan efek inhibisi. Namun model yang dibangun hanya digunakan untuk memperlihatkan dinamika pertumbuhan sel ragi berdasarkan data eksperimen.

Lain halnya dengan penelitian yang dilakukan oleh (Crownright, Rohwer, & Prior, 2002). Mereka membangun suatu model terstruktur sel ragi *S. cerevisiae* yang kemudian dianalisis dengan menggunakan *metabolic control analysis* untuk sistesis gliserol. Selanjutnya Kasbawati, dkk (2015), juga telah membangun suatu model terstruktur untuk sel ragi *S. cerevisiae* untuk dianalisis. Namun, model yang dibangun hanya melibatkan kinetika enzim dengan satu substrat dan tanpa memperhatikan faktor inhibisi. Berdasarkan analisis sensitivitas menggunakan *metabolic control analysis* ditemukan bahwa dengan meningkatkan suplai glukosa berdampak pada meningkatnya produksi etanol, namun tidak signifikan. Kemudian dengan mengurangi reaksi enzim asetaldehida dehidrogenase dan alkohol dehidrogenase juga akan meningkatkan produksi etanol dalam fermentasi. Hal ini

terjadi karena kedua enzim ini memberikan kontrol negatif tertinggi dalam reaksi. Lebih lanjut, penelitian Kasbawati, dkk (2019) merupakan pengembangan dari penelitian sebelumnya, yaitu Kasbawati, dkk (2015). Dalam penelitiannya, mereka memperoleh bahwa dengan pendekatan kontrol optimal untuk menentukan enzim kunci dan pengaturan optimal guna mengatur proses metabolisme dapat memproduksi etanol dengan maksimal. Caranya adalah dengan mengontrol suplai glukosa dan proses internal. Proses internal yang dimaksud adalah mengatur aktivitas maksimum enzim di titik cabang asetaldehida dengan mengurangi asetaldehida dehidrogenase dan ekspresi berlebihan piruvat dekarboksilase serta alkohol dehidrogenase. Namun, hanya dengan mengurangi aktivitas maksimum asetaldehida dehidrogenase dapat meningkatkan fluks etanol secara signifikan dan efisien karena hanya melibatkan satu enzim untuk diregulasi.

Penggunaan *metabolic control analysis* (MCA) sebagai alat, tidak terbatas hanya untuk sel ragi saja, melainkan untuk beberapa sel yang didalamnya terdapat reaksi antara enzim dengan substrat. Beberapa peneliti yang menggunakan MCA sebagai alat untuk menganalisis dengan objek yang berbeda-beda antara lain Hoefnagel, dkk (2002), Cescante, dkk (2002), González-Chávez, dkk (2014) dan Angelani, dkk (2018). Hoefnagel, dkk (2002) menggunakan *metabolic control analysis* untuk menganalisis bakteri asam laktat. Dalam penelitiannya, Hoefnagel, dkk (2002) membandingkan cara analisis antara model kinetik, MCA dan eksperimen. Cescante, dkk (2002) menggunakan MCA dalam bidang kesehatan, yakni untuk memahami efek ambang batas dalam manifestasi penyakit metabolik; menyelidiki efek dosis gen aneuploidi dalam menginduksi transformasi fenotipik pada kanker; mengkorelasikan kontribusi gen individu dan karakteristik fenotipik pada penyakit metabolik (misalnya, diabetes); mengidentifikasi kandidat enzim dalam jalur yang cocok sebagai target terapi kanker; dan menjelaskan fungsi gen "diam" dengan mengidentifikasi fitur metabolik yang dimiliki bersama dengan gen dari jalur yang diketahui. Kemudian, González-Chávez, dkk (2014) meneliti parasit *Trypanosoma cruzi* dan menggunakan MCA untuk menemukan obat yang cocok untuk penyakit yang diakibatkan oleh parasit *Trypanosoma cruzi*. Selanjutnya, Angelani, dkk (2018) menggunakan pendekatan MCA dengan objek penelitian sel darah merah manusia untuk menganalisis proses glikolitik yang terjadi di dalamnya.

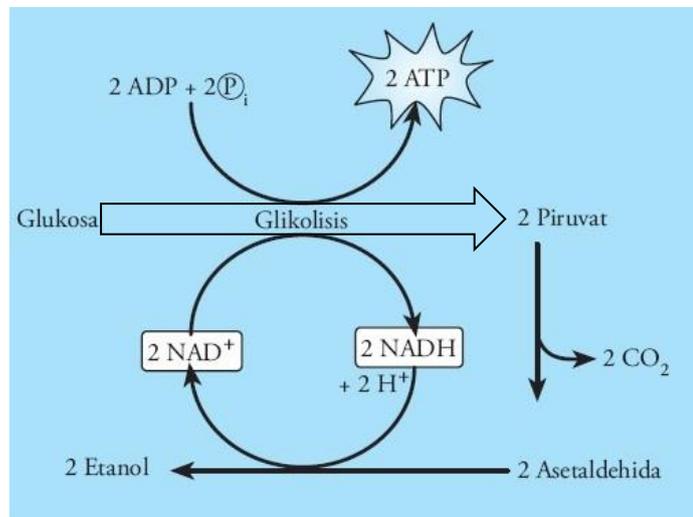
Dari semua penelitian yang telah dipaparkan, posisi penelitian ini berada pada penerapan metode *metabolic control analysis* untuk mengetahui enzim dengan tingkat sensitivitas yang tinggi pada model terstruktur pertumbuhan sel ragi *S. cerevisiae* yang telah dibangun oleh Lei, dkk (2001). Adapun aspek kebaruan dari penelitian ini adalah penggunaan model kinetika enzim multi substrat dengan memasukkan efek inhibisi dengan tujuan memaksimalkan produksi etanol yang dihasilkan oleh sel ragi. Inilah yang menjadi pembeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Adapun model yang digunakan adalah model dari Lei, dkk (2001) dan akan dijelaskan secara rinci pada subbab tersendiri.

2.2 Sistem Metabolisme

Metabolisme merupakan rangkaian reaksi kimia yang terjadi di dalam sel. Diawali dengan substrat awal dan menghasilkan suatu produk akhir. Berdasarkan tujuannya, metabolisme dibagi menjadi katabolisme dan anabolisme. Katabolisme adalah rangkaian reaksi kimia yang substrat awalnya merupakan molekul besar dan produk akhirnya adalah molekul kecil. Dengan kata lain, katabolisme adalah reaksi pembongkaran atau penguraian suatu molekul. Katabolisme memiliki dua fungsi, yaitu menyediakan bahan baku untuk sintesis molekul lain dan menyediakan energi kimia yang dibutuhkan untuk melakukan berbagai aktivitas kehidupan baik laju sel maupun laju individu. Sedangkan anabolisme adalah kebalikan dari katabolisme. Anabolisme merupakan reaksi penyusunan molekul kecil menjadi molekul besar (Aryulina dkk, 2007).

Respirasi Aerob dan Anaerob merupakan contoh dari katabolisme. Glukosa yang telah melewati proses metabolisme dalam saluran pencernaan, selanjutnya digunakan sebagai substrat dalam proses respirasi. Respirasi merupakan cara sel untuk mendapatkan energi dalam bentuk ATP (*Adenosin Trifosfat*) dan energi elektron tinggi (NADH_2 dan FADH_2). Terdapat 2 jenis respirasi, yaitu respirasi aerob dan respirasi anaerob. Respirasi aerob merupakan peristiwa pembakaran zat yang melibatkan oksigen dari pernapasan. Oksigen digunakan sebagai penerima elektron terakhir dalam pembentukan ATP. Respirasi aerob terjadi dalam tiga tahap, yaitu glikolisis, siklus krebs dan sistem transport elektron. Sedangkan respirasi anaerob adalah respirasi yang tidak menggunakan oksigen sebagai

penerima elektron akhir pada saat pembentukan ATP. Respirasi anaerob juga memakai glukosa sebagai substrat. Respirasi anaerob merupakan proses fermentasi.

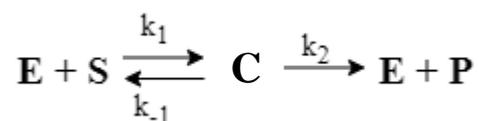


Gambar 2. 1 Fermentasi Etanol (Campbell, dkk 2008).

Fermentasi adalah cara memanen energi kimia tanpa menggunakan oksigen maupun rantai transport elektron manapun. Fermentasi etanol (yang telah disajikan pada Gambar 2.1) terdiri atas proses glikolisis disertai dengan reaksi-reaksi yang meregenerasi NAD⁺ dengan cara mentransfer elektron dari NADH ke piruvat. Kemudian, piruvat diubah menjadi etanol dengan dua langkah. Langkah pertama melepaskan karbon dioksida dari piruvat yang diubah menjadi asetilaldehida. Pada langkah kedua, asetilaldehida direduksi menjadi etanol oleh NADH. Reduksi inilah yang meregenerasi suplai NAD⁺ yang kemudian akan digunakan kembali pada proses glikolisis (Campbell & Reece, 2008).

2.3 Kinetika Michelis-Menten

Brown (1902) dalam Klipp dkk (2005) telah mengusulkan untuk pertama kalinya mengenai mekanisme enzimatik reaksi invertase (enzim yang memecah sukrosa) yang mana mencakup semua reaksi substrat tanpa reaksi balik dan efektor atau secara umum diberikan dalam Gambar 2.2.



Gambar 2. 2 Mekanisme reaksi enzim invertase (Klipp dkk, 2005).

Mekanisme tersebut mencakup reaksi bolak-balik enzim-substrat kompleks (C) yang berasal dari enzim bebas E dan substrat S serta reaksi satu arah yang merealisasikan produk P dari enzim E . Selanjutnya reaksi tersebut dapat dituliskan dalam bentuk sistem Persamaan diferensial

$$\frac{dS}{dt} = -k_1 ES + k_{-1}C, \quad (2.1)$$

$$\frac{dC}{dt} = k_1 ES - (k_{-1} + k_2)C, \quad (2.2)$$

$$\frac{dE}{dt} = -k_1 ES + (k_{-1} + k_2)C, \quad (2.3)$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2 C. \quad (2.4)$$

Adapun laju reaksi (v) sama dengan nilai negatif dari perubahan substrat dan sama juga dengan laju perubahan produk yang dapat dituliskan

$$v = -\frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt}. \quad (2.5)$$

Sistem pada (2.1)–(2.4) tidak dapat diselesaikan secara analitik. Pada tahun 1913, Michaelis dan Menten mengasumsikan bahwa konversi dari E dan S menjadi enzim kompleks C lebih cepat dibandingkan dekomposisi C menjadi E dan P . Selanjutnya Briggs dan Heldane (1925) telah mengasumsikan bahwa reaksi suatu keadaan dapat dicapai jika konsentrasi kompleks C tetap konstan. Asumsi ini dibenarkan hanya jika konsentrasi awal substrat jauh lebih besar dari konsentrasi enzim. Jika tidak, kondisi *steady-state* tidak akan pernah dicapai. Mereka menyarankan asumsi yang lebih umum tentang *quasi-steady state* dari C yang dituliskan

$$\frac{dC}{dt} = 0. \quad (2.6)$$

Selanjutnya, laju reaksi akan diturunkan dengan menggunakan sistem pada (2.1)–(2.4) dan asumsi *quasi-steady state* dari C . Sehingga diperoleh

$$\frac{dC}{dt} + \frac{dE}{dt} = 0, \quad (2.7)$$

$$E_{total} = C + E. \quad (2.8)$$

Dalam reaksi ini, enzim tidak diproduksi atau dikonsumsi. Kemungkinan yang lain adalah enzim tersebut bebas atau terlibat dalam reaksi, tetapi konsentrasi totalnya tetap konstan.

Kemudian dengan memasukkan Persamaan (2.2) ke Persamaan (2.8) dibawah asumsi *steady-state* dalam Persamaan (2.6) diperoleh

$$C = \frac{k_1 E_{total} S}{k_1 S + k_{-1} + k_2} = \frac{E_{total} S}{S + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}}. \quad (2.9)$$

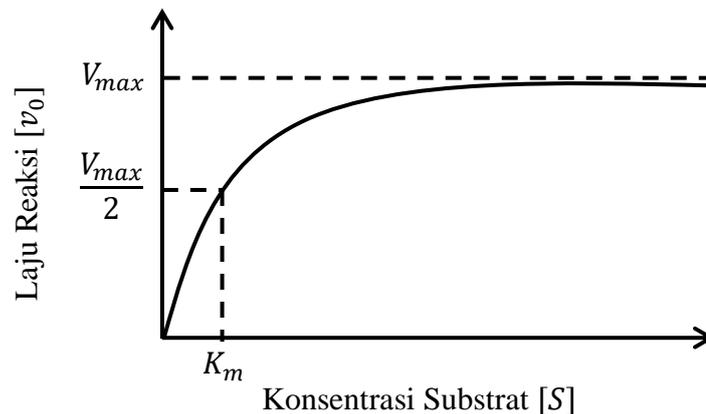
Selanjutnya, substitusikan Persamaan (2.8) ke Persamaan (2.4). Setelah itu, dengan menggunakan Persamaan (2.5) diperoleh

$$v = \frac{dP}{dt} = k_2 C = k_2 \frac{E_{total} S}{S + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}}. \quad (2.10)$$

Persamaan (2.10) dapat dituliskan dalam bentuk yang sederhana menjadi

$$v = \frac{V_{maks} S}{S + K_m}, \quad (2.11)$$

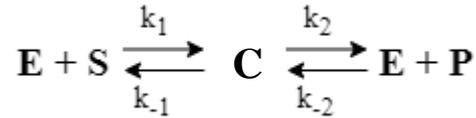
dengan V_{maks} adalah laju maksimal dicapai saat enzim benar-benar jenuh dengan substrat sedangkan K_m disebut konstanta Michaelis. Persamaan (2.11) disebut kinetika Michaelis-Menten.



Gambar 2. 3 Interpretasi Kinetika Michaelis-Menten.

Dalam praktiknya, tidak hanya terdapat reaksi satu arah saja, melainkan terdapat juga reaksi bolak-balik. Michaelis-Menten juga telah menurunkan kinetika

enzim untuk reaksi bolak-balik ini. Enzim memungkinkan untuk mengkatalis substrat dengan dua arah. Perhatikan mekanisme dalam Gambar 2.4.



Gambar 2. 4 Mekanisme reaksi enzim yang bolak-balik (Klipp dkk, 2005).

Model yang dibentuk dari mekanisme enzim diatas dituliskan sebagai berikut:

$$\frac{dS}{dt} = -k_1 ES + k_{-1}C, \tag{2.12}$$

$$\frac{dC}{dt} = (k_1 + k_{-2}) ES - (k_{-1} + k_2)C, \tag{2.13}$$

$$\frac{dE}{dt} = -(k_1 + k_{-2}) ES + (k_{-1} + k_2)C, \tag{2.14}$$

$$\frac{dP}{dt} = k_2 C - k_{-2} P = v. \tag{2.15}$$

Selanjutnya, dengan menggunakan Persamaan (2.6) dan Persamaan (2.13) diperoleh

$$\frac{dC}{dt} = (k_1 + k_{-2})ES - (k_{-1} + k_2)C = 0$$

$$(k_{-1} + k_2)C = (k_1 + k_{-2})ES$$

$$C = \frac{(k_1 + k_{-2})ES}{(k_{-1} + k_2)}. \tag{2.16}$$

Kemudian, Persamaan (2.16) dapat diubah dengan menggunakan Persamaan (2.8) menjadi

$$C = \frac{(k_1 + k_{-2})E_{total} S}{k_1 S + k_{-2} S + k_{-1} + k_2}. \tag{2.17}$$

Setelah itu, substitusi Persamaan (2.17) ke Persamaan (2.15) dan diperoleh

$$v = k_2 \frac{(k_1 + k_{-2})E_{total} S}{k_1 S + k_{-2} S + k_{-1} + k_2} - k_{-2} P \tag{2.19}$$

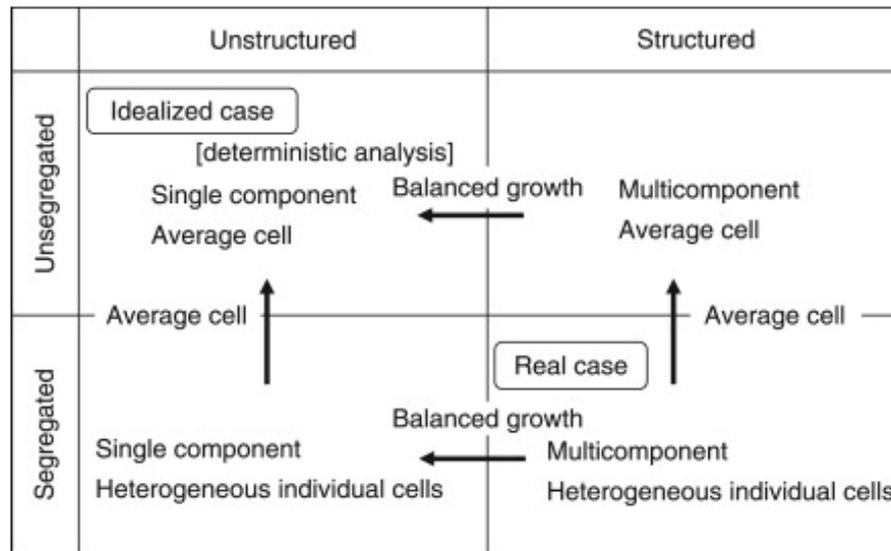
$$= E_{total} \frac{S - P}{\frac{k_1 S}{k_{-1} k_{-2}} + \frac{1}{k_{-2}} + \frac{k_2}{k_{-1} k_{-2}} + \frac{P}{k_{-1}}} = \frac{\frac{V_{maks}^{for}}{K_{mS}} S - \frac{V_{maks}^{back}}{K_{mP}} P}{1 + \frac{S}{K_{mS}} + \frac{P}{K_{mP}}}$$

Parameter $k_{\pm 1}$ dan $k_{\pm 2}$ adalah konstanta kinetika untuk masing-masing tahapan reaksi. Parameter V_{maks}^{for} dan V_{maks}^{back} adalah laju maksimum untuk arah maju dan mundur. K_{mS} dan K_{mP} masing-masing menotasikan konsentrasi substrat dan produk.

Perlu diketahui bahwa tidak semua enzim dapat dinyatakan dalam kinetika Michelis-Menten seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Hal ini dikarenakan beberapa enzim memiliki karakteristik dan sifat masing-masing. Salah satunya adalah memiliki inhibitor atau suatu zat yang menghambat kerja enzim. Terdapat dua jenis inhibitor, yaitu inhibitor kompetitif dan inhibitor nonkompetitif. Terkait hal ini, Michelis-Menten juga telah memodelkan kinetika enzim sesuai dengan inhibitor yang dimiliki.

2.4 Model Terstruktur

Dalam memodelkan proses biokimia terdapat model tak terstruktur (*unstructured model*) dan model terstruktur (*structured model*). Perbedaan antara model tak terstruktur dengan model terstruktur terletak pada cara pandang dalam pemodelan. Model tak terstruktur dibangun hanya dengan memandang substrat masukan dan keluarannya, tanpa memperhatikan proses yang terjadi didalamnya. Sedangkan model terstruktur dibangun dari proses-proses internal yang terjadi dalam suatu media dengan memerhatikan juga zat-zat yang menjadi masukan dan produk. Selain itu, terdapat keragaman dalam populasi sel yang menunjukkan fitur, fungsi, dan aktivitas metabolisme yang berbeda sehingga sampai saat ini sel dianggap sebagai kotak hitam. Maksud dari kotak hitam adalah sel-sel dalam populasi mikroba dianggap homogen tanpa memperhatikan variabilitasnya dalam bentuk, ukuran, fungsi fisiologis, dan sebagainya. Oleh sebab itu, terdapat sudut pandang lain dalam membangun model pertumbuhan sel, yakni sel yang dipandang heterogen (*segregated*) dan sel homogen (*unsegregated*), sehingga perspektif ini ditunjukkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2. 5 Berbagai tipe model pertumbuhan sel (Miyanaga dan Unno, 2011).

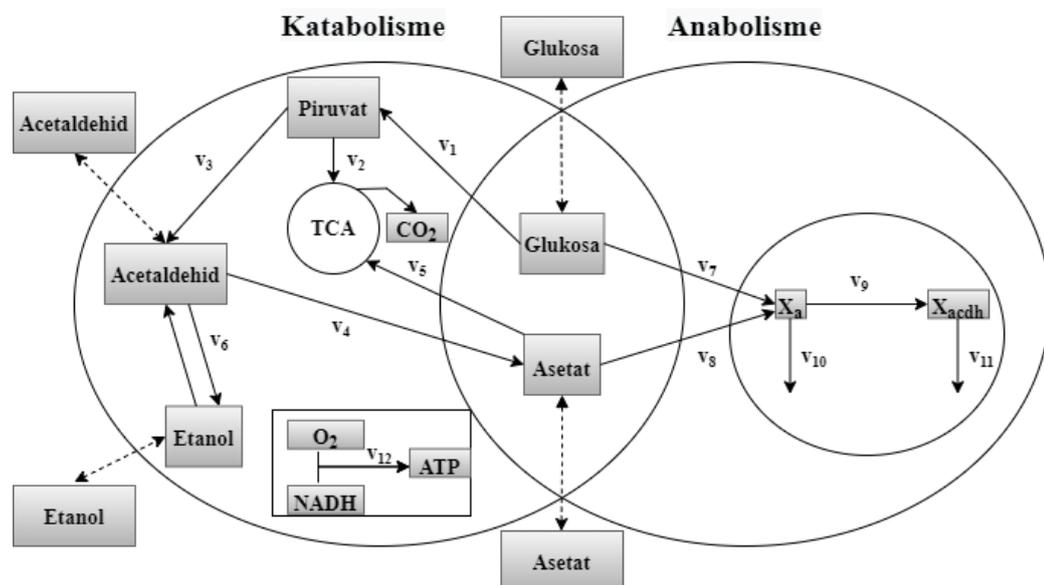
Model terstruktur adalah model yang memberikan informasi tentang keadaan fisiologis, komposisi dan regulasi adaptasi mikroorganisme terhadap lingkungannya. Model terstruktur memiliki kompleksitas yang lebih tinggi daripada model yang tidak terstruktur karena bertujuan untuk memberikan representasi yang lebih baik. Namun, model terstruktur harus dibangun dari sesedikit mungkin kelompok fungsional yang relevan dalam proses intraseluler. Hal ini bertujuan untuk memberikan deskripsi yang cukup baik dari model yang dibentuk. Tujuan yang lainnya adalah agar terbentuk model sederhana dengan jumlah variabel dan parameter sedikit sehingga dapat meminimalisasi kesulitan dalam verifikasi model dan identifikasi parameter (Schügerl & Bellgardt, 2000).

2.5 Model Terstruktur Pertumbuhan Sel Ragi *Saccharomyces cerevisiae*

Lei, dkk (2001) telah membentuk suatu model terstruktur yang cukup kompleks dari sel ragi *S. cerevisiae* berdasarkan data eksperimen. Model diilustrasikan pada Gambar 2.5 dengan mengikuti asumsi-asumsi, yaitu:

- Reaktor tercampur dengan sempurna,
- Pertumbuhan hanya terbatas pada glukosa dan etanol,
- Reaktor benar-benar dikontrol dengan oksigen terlarut, temperatur, pH dan komponen pertumbuhan yang lainnya,
- Evaporasi dan lajur metabolit dapat diabaikan,

- Populasi sel ragi dianggap homogen,
- Material di dalam sel dianggap terdistribusi seragam,
- Enzim kompleks intermediet dan metabolit intermediet tidak dimodelkan di kondisi *steady state*,
- Koefisien Stoikiometri selama proses berlangsung dianggap konstan,
- Komposisi formula untuk biomassa adalah independen,
- Konsentrasi metabolit intraseluler dapat dipisahkan dari konsentrasi ekstraseluler,
- Sistem penyerapan glukosa dapat dimodelkan dengan dua kinetika Michelis-Menten.



Gambar 2. 6 Sistem Metabolisme Sel Ragi (Lei dkk, 2001).

Glukosa dimetabolisme melalui dua jalur, yaitu jalur katabolik menyerupai glikolisis yang mengarah ke piruvat (v_1) dan jalur anabolik yang mengarah pada pembentukan biomassa (v_7). Pada fluks glikolitik rendah, piruvat diubah melalui piruvat dehidrogenase dan siklus asam tricarboxylic (TCA) menjadi CO_2 (v_2). Ketika fluks glikolitik melebihi nilai kritis, piruvat dipecah dengan piruvat dehidrogenase sehingga asetaldehida terbentuk (v_3). Asetaldehida diubah menjadi asetat (v_4). Sementara itu, saturasi asetaldehida dehidrogenase (Acdh) menghasilkan etanol (v_6). Jika tidak ada glukosa yang tersedia, sel dapat memanfaatkan etanol sebagai substrat. Etanol diubah melalui asetaldehida menjadi asetat, yang dapat digunakan dalam jalur katabolik yang mengarah ke CO_2 ($v_6 +$

$v_4 + v_5$) atau jalur anabolik (v_8). Biomassa yang dihasilkan dari glukosa atau asetat dikumpulkan ke dalam kompartemen aktif yang menyatukan kembali semua bagian sel, yang secara langsung terkait dengan pertumbuhan. Selanjutnya kompartemen asetaldehida dehidrogenase adalah model untuk memperhitungkan berbagai kapasitas enzimatik dari dua asetaldehida dehidrogenase isoenzim. Selain itu degradasi kedua kompartemen sudah disertakan ($v_{10} + v_{11}$).

Semua reaksi dimodelkan berdasarkan kinetika Michaelis-Menten sehubungan dengan substrat tertentu dan ketergantungan pada biomassa aktif X_a . X_a didefinisikan sebagai bahan sel aktif yang digunakan dalam berbagai proses pertumbuhan seperti yang diusulkan oleh Nielsen dan Villadsen (1994). Berdasarkan pengetahuan fisiologis sel ragi *S. cerevisiae*, sebagian besar laju reaksi telah diperluas dan setiap penyimpangan umum dari ekspresi Michaelis-Menten akan diperbaiki. Reaksi pertama dalam model (v_1) adalah reaksi yang menggambarkan sistem penyerapan glukosa dan jalur glikolitik. Secara umum, fluks yang melalui jalur metabolisme biasanya dikendalikan oleh lebih dari satu reaksi spesifik (Stephanopoulos dkk, 1998). Oleh karena itu, v_1 dimodelkan dengan menggunakan deskripsi laju empiris. Untuk penyerapan glukosa ke dalam sel afinitas rendah dan sistem afinitas yang tinggi telah diidentifikasi. Namun, beberapa sistem serapan lainnya tetap ada (Reifenberger dkk, 1995). Dari sini diasumsikan bahwa sistem serapan dapat dimodelkan sebagai dua kinetika Michaelis-Menten tunggal (Benthin dkk, 1992). Ekspresi laju untuk glikolisis lebih lanjut diaktifkan oleh asetaldehid. Oleh karena itu, hanya aktif selama pertumbuhan oksido-reduktif. Aktivasi tersebut bersifat empiris, tetapi dapat diinterpretasikan sebagai konsekuensi dari saturasi katabolisme oksidatif (Sonnleitner dan Kappeli, 1986). Energi yang dihasilkan untuk pertumbuhan pada laju yang lebih tinggi, perlu bagi sel untuk menghasilkan energi dengan menggunakan jalur fermentasi sehingga terbentuklah etanol. Jalur ini menghasilkan energi yang sedikit. Akibatnya, ini memerlukan bantuan energi yang lebih besar melalui proses glikolisis. Dalam model, asetaldehida digunakan sebagai signal metabolit untuk mengaktifasi jalur fermentasi. Berdasarkan pengamatan eksperimental oleh Postma dkk, (1989), akumulasi asetaldehida berada di atas laju pengenceran kritis pada kemostatik.

Proses metabolisme piruvat melalui dua rute, yaitu v_2 dimana piruvat dehidrogenase kompleks mengonversi piruvat menjadi asetil-KoA kemudian masuk ke siklus TCA atau piruvat dehidrogenase dapat digunakan untuk produksi asetil-KoA ($v_3 + v_4 + v_5$) (Alexander dan Jeffries, 1990).

Dua reaksi telah dimodelkan untuk konversi asetaldehida. Asetaldehida diubah oleh alkohol dehidrogenase untuk membentuk etanol atau dengan asetaldehida dehidrogenase menjadi asetat. Reaksi terakhir (v_4) dimodelkan dengan hal utama bergantung pada konsentrasi asetaldehid dehidrogenase. Konsentrasi asetaldehid dehidrogenase dalam sel diasumsikan sebanding dengan kompartemen sel (X_{Acdh}) dikalikan dengan kompartemen sel aktif (X_a). Telah diasumsikan bahwa, hanya NADH yang berperan sebagai kofaktor dalam reaksi ini meskipun ada bentuk kebergantungan antara NADH dan NADPH dari asetaldehid dehidrogenase.

Pembentukan etanol dari asetaldehida (v_6) adalah reaksi bolak balik dan kesetimbangan dikendalikan oleh keseimbangan redoks bersamaan dengan konsentrasi asetaldehida dan etanol (Barman, 1969). Selama tidak ada keseimbangan redoks dalam model, deskripsi laju enzimatis reversibel diatur dalam konsentrasi asetaldehida dan etanol termasuk kebergantungan pada kompartemen aktif (X_a).

Asetat adalah bagian dari jalan lintas piruvat dehidrogenase dan (v_5) menggambarkan respirasi asetat. Laju reaksi dibentuk sesuai dengan dua gen pengkodean untuk asetil-KoA sintetase, ACS1 dan ACS2 (van den Berg dkk., 1996). Hanya bentuk pertama (sesuai dengan reaksi yang dikatalisis oleh enzim Acs2p) yang diubah menjadi asetil-KoA melalui bypass piruvat dehidrogenase asalkan asetat ada. Suku kedua dalam (v_5) menyerupai reaksi yang dikatalisis oleh Acs1p, yang ditekan oleh glukosa (Van den Berg dan Steensma, 1995). Oleh karena itu, piruvat dehidrogenase hanya aktif pada konsentrasi glukosa rendah.

Biomassa terbentuk dari glukosa yang dikonversi menjadi bahan seluler aktif dalam kompartemen X_a oleh reaksi (v_7). Biomassa (X_a) juga dapat terbentuk dari asetat dalam reaksi (v_8) melalui jalur anabolik yang ditekan oleh glukosa. Laju reaksi konversi anabolik asetat mengendalikan penghambatan glukosa untuk memastikan bahwa jalur anabolik ini ditekan selama pertumbuhan. Laju reaksi

untuk (v_8) mirip dengan suku kedua (v_5) karena diasumsikan bahwa penghambatan kedua reaksi terjadi pada konsentrasi glukosa yang sama. Oleh karena itu, jumlah parameter model berkurang.

Kompartemen asetaldehida dehidrogenase terbentuk dari komponen aktif dalam sel (X_a) melalui reaksi (v_9). Laju reaksi (v_9) dibentuk secara empiris mengikuti aktifitas pengukuran eksperimen in-vitro yang ditemukan oleh Postma *dkk.* (1989). Dua suku pertamanya memasukkan represi glukosa karena penurunan aktivitas telah diamati dengan meningkatnya konsentrasi glukosa. Penambahan kinetika Monod disertakan untuk memastikan sintesis konstitutif kecil kompartemen pada konsentrasi glukosa tinggi.

Laju degradasi kompartemen aktif (v_{10}) diasumsikan tergantung pada apakah glukosa atau etanol tersedia dalam media. Oleh karena itu, laju reaksi untuk degradasi X_a terdiri dari dua bentuk yang menggambarkan hilangnya suku pertama kompartemen. Kinetika monod digunakan untuk mengaktifkan masing-masing dari dua bentuk peluruhan ketika etanol atau glukosa tersedia dengan memilih konstanta afinitas yang sangat kecil (K_{10} dan K_{10e}) sedemikian sehingga bentuk Monod bertindak sebagai sakelar terus menerus. Hal ini bertolak belakang dengan dengan model, saat $v_{10} = 0$, ketika konsentrasi glukosa dan etanol adalah nol. Sehingga model tersebut hanya berlaku jika konsentrasi etanol atau glukosa tidak nol.

Kompartemen penurunan asetaldehida dehidrogenase atau v_{11} dimodelkan dengan satu suku. Fosforilasi oksidatif (v_{12}) tidak dimodelkan dengan sebuah bentuk kinetika karena diasumsikan bahwa semua hasil NADH diubah menjadi ATP secara instan. Dengan demikian, model yang telah diformulasikan dinyatakan sebagai berikut:

$$\frac{ds_1}{dt} = -(v_1 + v_7)x + (S_f - s_1)D,$$

$$\frac{ds_2}{dt} = (0.978v_1 - v_2 - v_3)x - s_2 \cdot D,$$

$$\frac{ds_3}{dt} = (0.5v_3 - v_4 - v_6)x - s_3 \cdot D,$$

$$\frac{ds_4}{dt} = (1.363v_4 - v_5 - v_8)x - s_4 \cdot D,$$

$$\frac{ds_5}{dt} = 1.045v_6 \cdot x - s_5 \cdot D,$$

$$\frac{dx}{dt} = (0.732v_7 + 0.619v_8 - D)x,$$

$$\frac{dX_a}{dt} = 0.732v_7 + 0.619v_8 - v_9 - v_{10} - (0.732v_7 + 0.619v_8)X_a,$$

$$\frac{dX_{Acdh}}{dt} = v_9 - v_{11} - (0.732v_7 + 0.619v_8)X_{Acdh}.$$

Kemudian untuk v_1, v_2, \dots, v_{11} adalah kinetika enzim dalam proses metabolisme yang diturunkan dengan menggunakan kinetika Michelis-Menten sesuai dengan karakteristik masing-masing dari enzim yang terlibat dalam proses metabolisme dan dinyatakan sebagai berikut:

$$v_1 = \left(k_{1l} \frac{s_1}{s_1 + K_{1l}} + k_{1h} \frac{s_1}{s_1 + K_{1h}} + k_{1e} \frac{s_1}{s_1(s_3 \cdot K_{1i} + 1) + K_{1e}} s_3 \right) X_a,$$

$$v_2 = \left(k_2 \frac{s_2}{(s_2 + K_2)(K_{2i} \cdot s_1 + 1)} \right) X_a,$$

$$v_3 = \left(k_3 \frac{s_2}{(s_2 + K_3)} \right) X_a,$$

$$v_4 = \left(k_4 \frac{s_3}{(s_3 + K_4)} \right) X_a \cdot X_{Acdh},$$

$$v_5 = \left(k_5 \frac{s_4}{(s_4 + K_5)} + k_{5e} \frac{s_4}{(s_4 + K_{5e})(K_{5i} \cdot s_1 + 1)} \right) X_a,$$

$$v_6 = \left(k_6 \frac{s_3 - k_{6r} \cdot s_5}{s_3 + K_6 + K_{6e} \cdot s_5} \right) X_a,$$

$$v_7 = \left(k_7 \frac{s_1}{(s_1 + K_7)} \right) X_a,$$

$$v_8 = \left(k_8 \frac{s_4}{(s_4 + K_{5e})(K_{5i} \cdot s_1 + 1)} \right) X_a,$$

$$v_9 = \left(k_9 \frac{s_1}{(s_1 + K_9)} + k_{9e} \frac{s_5}{(s_5 + K_{9e})} \right) \left(\frac{1}{(K_{5i} \cdot s_1 + 1)} \right) X_a + k_{9e} \frac{s_1}{(s_1 + K_9)} \cdot X_a,$$

$$v_{10} = \left(k_{10} \frac{s_1}{(s_1 + K_{10})} + k_{10e} \frac{s_5}{(s_5 + K_{10e})} \right) X_a,$$

$$v_{11} = k_{11} \cdot X_{Acdh}.$$

Pada penelitian ini akan digunakan model dan laju reaksi dalam proses metabolisme utama sel ragi yang telah dibangun oleh Lei dkk, (2001). Sebagai asumsi tambahan, semua sel mengalami pertumbuhan yang sama sehingga hanya ditinjau satu sel saja.

Dengan demikian, model yang diperoleh untuk kemudian dianalisis adalah

$$\frac{ds_1}{dt} = -v_1 + S_f \cdot D - s_1 \cdot D,$$

$$\frac{ds_2}{dt} = 0.978v_1 - v_2 - v_3 - s_2 \cdot D,$$

$$\frac{ds_3}{dt} = 0.5v_3 - v_4 - v_6 - s_3 \cdot D, \tag{2.20}$$

$$\frac{ds_4}{dt} = 1.363v_4 - v_5 - s_4 \cdot D,$$

$$\frac{ds_5}{dt} = 1.045v_6 - s_5 \cdot D,$$

dimana v_1, v_2, \dots, v_6 adalah laju reaksi setiap enzim yang dinotasikan sebagai berikut:

$$v_1 = k_{1l} \frac{s_1}{s_1 + K_{1l}} + k_{1h} \frac{s_1}{s_1 + K_{1h}} + k_{1e} \frac{s_1}{s_1(s_3 \cdot K_{1i} + 1) + K_{1e}} s_3,$$

$$v_2 = k_2 \frac{s_2}{(s_2 + K_2)(K_{2i} \cdot s_1 + 1)},$$

$$v_3 = k_3 \frac{s_2}{(s_2 + K_3)},$$

$$v_4 = k_4 \frac{s_3}{(s_3 + K_4)},$$

$$v_5 = k_5 \frac{s_4}{(s_4 + K_5)} + k_{5e} \frac{s_4}{(s_4 + K_{5e})(K_{5i} \cdot s_1 + 1)},$$

$$v_6 = k_6 \frac{s_3 - k_{6r} \cdot s_5}{s_3 + K_6 + K_{6e} \cdot s_5}.$$

2.6 Sistem Persamaan Diferensial

Sistem Persamaan diferensial adalah sistem yang memuat lebih dari satu Persamaan diferensial yang saling berpengaruh satu dengan yang lainnya. Sistem Persamaan diferensial dapat ditulis sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= f_1(x_1, x_2, \dots, x_n, t), \\ \frac{dx_2}{dt} &= f_2(x_1, x_2, \dots, x_n, t), \\ &\vdots \\ \frac{dx_n}{dt} &= f_n(x_1, x_2, \dots, x_n, t), \end{aligned} \quad (2.21)$$

atau dapat ditulis menjadi

$$\dot{\mathbf{x}}(t) = \mathbf{f}(\mathbf{x}, t), \quad (2.22)$$

dengan $\dot{\mathbf{x}}(t) = \left(\frac{dx_1}{dt}, \frac{dx_2}{dt}, \dots, \frac{dx_n}{dt} \right)$ dan $\mathbf{f} = (f_1, f_2, \dots, f_n)$ adalah semua fungsi yang turunan parsial pertamanya kontinu di \mathbb{R}^n serta $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_n) \in \mathbb{R}^n$ adalah variabel tak bebas dan t adalah variabel bebas. Jika pada Persamaan (2.22) variabel bebas t dinyatakan secara eksplisit, maka Persamaan (2.22) disebut sebagai Persamaan non-autonomous. Jika variabel bebas t dinyatakan secara implisit, maka Persamaan (2.22) menjadi Persamaan autonomous yang berbentuk

$$\dot{\mathbf{x}}(t) = \mathbf{f}(\mathbf{x}). \quad (2.23)$$

Sistem autonomous dapat dikelompokkan menjadi sistem autonomous linier dan sistem autonomous tak linier (Boyce dkk, 2017).

Sistem (2.22) disebut sebagai sistem persamaan diferensial linier, jika untuk setiap fungsi f_i , dengan $i = 1, 2, \dots, n$ adalah fungsi linier terhadap x_1, x_2, \dots, x_n . Secara umum, sistem dari n persamaan diferensial linier orde satu dapat ditulis dalam bentuk

$$\begin{aligned} \dot{x}_1(t) &= a_{11}(t)x_1(t) + a_{12}(t)x_2(t) + \cdots + a_{1n}(t)x_n(t) + f_1(t), \\ \dot{x}_2(t) &= a_{21}(t)x_1(t) + a_{22}(t)x_2(t) + \cdots + a_{2n}(t)x_n(t) + f_2(t), \\ &\vdots \\ \dot{x}_n(t) &= a_{n1}(t)x_1(t) + a_{n2}(t)x_2(t) + \cdots + a_{nn}(t)x_n(t) + f_n(t). \end{aligned} \quad (2.24)$$

Sistem (2.24) dapat dituliskan ke dalam bentuk matriks sebagai berikut:

$$\begin{bmatrix} \dot{x}_1(t) \\ \dot{x}_2(t) \\ \vdots \\ \dot{x}_n(t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11}(t) & a_{12}(t) & \cdots & a_{1n}(t) \\ a_{21}(t) & a_{22}(t) & \cdots & a_{2n}(t) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1}(t) & a_{n2}(t) & \cdots & a_{nn}(t) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1(t) \\ x_2(t) \\ \vdots \\ x_n(t) \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} f_1(t) \\ f_2(t) \\ \vdots \\ f_n(t) \end{bmatrix},$$

yang dapat dituliskan ke dalam bentuk yang sederhana, yaitu

$$\dot{\mathbf{x}}(t) = A(t)\mathbf{x}(t) + \mathbf{f}(t).$$

Jika fungsi $\mathbf{f}(t) = 0$, maka Persamaan tersebut dapat dikatakan sistem persamaan diferensial linier homogen yang dapat dituliskan menjadi

$$\dot{\mathbf{x}}(t) = A(t)\mathbf{x}(t). \quad (2.25)$$

Jika koefisien sistem merupakan konstanta, maka Persamaan (2.25) dapat dituliskan dalam bentuk lain menjadi

$$\begin{bmatrix} \dot{x}_1(t) \\ \dot{x}_2(t) \\ \vdots \\ \dot{x}_n(t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \cdots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1(t) \\ x_2(t) \\ \vdots \\ x_n(t) \end{bmatrix}, \quad (2.26)$$

atau secara singkat dapat dituliskan

$$\dot{\mathbf{x}}(t) = A\mathbf{x}(t).$$

Sistem (2.22) disebut sebagai sistem persamaan diferensial tak linier terhadap x_1, x_2, \dots, x_n , apabila terdapat f_i yang bukan merupakan fungsi linier (Boyce dkk, 2017). Sistem autonomous yang memuat Persamaan-Persamaan diferensial tak linier orde satu dapat ditulis dalam bentuk

$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= f_1(x_1, x_2, \dots, x_n), \\ \frac{dx_2}{dt} &= f_2(x_1, x_2, \dots, x_n), \\ &\vdots \\ \frac{dx_n}{dt} &= f_n(x_1, x_2, \dots, x_n). \end{aligned} \quad (2.27)$$

2.7 Titik Keseimbangan

Titik keseimbangan adalah titik yang menunjukkan suatu keadaan dari sistem yang tidak berubah terhadap waktu.

Definisi 2.1 (Meiss, 2007)

Titik $\bar{x} = (\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) \in \mathbb{R}^n$ disebut titik keseimbangan Persamaan (2.23) jika $f(\bar{x}) = \mathbf{0}$.

Contoh 2.1

Diberikan sistem Persamaan diferensial sebagai berikut

$$(i) \quad \dot{x} = 3y - 4x \tag{2.28}$$

$$\dot{y} = 2x - 3y$$

Berdasarkan Definisi 2.1, diperoleh titik keseimbangan dari sistem Persamaan diferensial linier tersebut adalah (0,0).

$$(ii) \quad \dot{x} = y^2 - 4x \tag{2.29}$$

$$\dot{y} = 2x^3 - 3xy$$

Berdasarkan Definisi 2.1, diperoleh titik keseimbangan dari sistem Persamaan diferensial linier tersebut adalah (0,0).

2.8 Kestabilan Titik Keseimbangan Sistem Persamaan Diferensial

Kestabilan titik keseimbangan telah dikenal sebagai konsep perilaku sistem pada titik keseimbangan. Kestabilan tersebut merupakan wawasan untuk mendeskripsikan perilaku sistem. Jika perubahan kecil pada sistem dapat mengakibatkan perubahan yang signifikan pada perilaku solusi untuk waktu yang akan datang, maka sistem dikatakan tidak stabil. Akan tetapi, jika perubahan kecil pada sistem hanya mengubah sedikit saja pada perilaku solusi untuk waktu yang akan datang, maka sistem tersebut dikatakan stabil.

Tinjau kembali sistem Persamaan diferensial linier pada Persamaan (2.26). Misalkan \mathbf{V}_0 adalah vektor tak nol yang memenuhi $A\mathbf{V}_0 = \lambda\mathbf{V}_0$, dengan $\lambda \in \mathbb{R}$ sehingga fungsi:

$$\mathbf{x}(t) = e^{\lambda t}\mathbf{V}_0,$$

adalah solusi dari Persamaan (2.26). Hal ini dapat ditunjukkan sebagai berikut:

$$\dot{\mathbf{x}}(t) = \lambda e^{\lambda t}\mathbf{V}_0 = e^{\lambda t}(\lambda\mathbf{V}_0) = e^{\lambda t}(A\mathbf{V}_0) = A(e^{\lambda t}\mathbf{V}_0) = A\mathbf{x}(t),$$

dengan skalar λ adalah nilai eigen dari A dan vektor \mathbf{V}_0 adalah vektor eigen yang bersesuaian dengan λ . Hal ini ditegaskan dalam Definisi 2.2.

Definisi 2.2

Jika A adalah sebuah matriks berukuran $n \times n$, maka sebuah vektor tak nol \mathbf{V}_0 di \mathbb{R}^n disebut vektor eigen dari A jika $A\mathbf{V}_0$ adalah kelipatan skalar dari \mathbf{V}_0 , atau dapat dituliskan:

$$A\mathbf{V}_0 = \lambda\mathbf{V}_0,$$

untuk beberapa skalar λ . Skalar λ disebut nilai eigen dari A , dan \mathbf{V}_0 dikatakan sebagai vektor eigen yang bersesuaian dengan λ .

Teorema 2.1 (Anton dan Rorres, 2014)

Jika A adalah sebuah matriks berukuran $n \times n$, maka λ adalah nilai eigen dari A jika dan hanya jika memenuhi Persamaan berikut:

$$\det(\lambda I - A) = 0.$$

Persamaan tersebut dikatakan sebagai Persamaan karakteristik dari A .

Dari Teorema 2.1, Persamaan $\det(\lambda I - A) = 0$ dapat ditulis pula dalam bentuk polinomial berikut:

$$\lambda^n + p_1\lambda^{n-1} + \dots + p_{n-1}\lambda + p_n = 0, \quad (2.30)$$

dengan $p_i, i = 1, 2, \dots, n$ adalah bilangan real (Murray, 2001).

Selanjutnya dengan meninjau solusi dari Persamaan (2.26) yang telah dijelaskan sebelumnya, untuk $t > 0$, kekonvergenan $\mathbf{x}(t)$ ditentukan oleh nilai λ . $\mathbf{x}(t)$ akan konvergen ke suatu nilai, untuk nilai λ dengan bagian real negatif. Berdasarkan hal tersebut, kestabilan akan ditentukan oleh nilai λ dan akan dibahas lebih lanjut dalam Teorema 2.2

Teorema 2.2 (Subiono, 2013)

Diberikan $\bar{\mathbf{x}}$ sebagai titik kesetimbangan dari sistem Persamaan diferensial $\dot{\mathbf{x}} = A\mathbf{x}$ dengan matriks A berukuran $n \times n$ dan mempunyai nilai eigen $\lambda_1, \lambda_2, \dots, \lambda_n$.

- (i) Titik kesetimbangan $\bar{\mathbf{x}}$ adalah stabil asimtotik jika dan hanya jika $Re(\lambda_i) < 0$ untuk semua $i = 1, 2, \dots, n$.
- (ii) Titik kesetimbangan $\bar{\mathbf{x}}$ adalah stabil jika dan hanya jika $Re(\lambda_i) \leq 0$ untuk semua $i = 1, 2, \dots, n$ dan terdapat paling sedikit sepasang nilai eigen imajiner murni dengan multiplisitas satu.

- (iii) Titik kesetimbangan \bar{x} adalah tidak stabil jika dan hanya tidak memenuhi (i) atau (ii).

Contoh 2.2

Diberikan suatu sistem pada Persamaan (2.28) yang memiliki titik kesetimbangan (0,0). Sistem tersebut dapat dituliskan dalam bentuk matriks sebagai berikut:

$$\begin{bmatrix} \dot{x} \\ \dot{y} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -4 & 3 \\ 2 & -3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix}.$$

Menurut Teorema 2.2, diperoleh Persamaan karakteristik dari sistem pada Persamaan (2.28), yaitu:

$$\begin{vmatrix} -4 - \lambda & 3 \\ 2 & -3 - \lambda \end{vmatrix} = 0$$

$$\lambda^2 + 7\lambda + 6 = 0$$

Sehingga diperoleh nilai eigennya, yaitu $\lambda_1 = -6$ dan $\lambda_2 = -1$. Karena $Re(\lambda_1)$ dan $Re(\lambda_2)$ bernilai negatif, maka menurut Teorema 2.2, titik kesetimbangan dari sistem tersebut stabil asimtotik.

Selanjutnya akan dijelaskan mengenai kestabilan titik kesetimbangan dari sistem Persamaan diferensial yang tak linier. Diberikan sistem pada Persamaan (2.27) yang memiliki titik kesetimbangan \bar{x} . Perilaku solusi sistem (2.27) di sekitar titik kesetimbangan dapat dianalisis melalui metode linierisasi. Linierisasi adalah proses aproksimasi Persamaan diferensial tak linier dengan Persamaan diferensial linier di sekitar solusi kesetimbangannya. Pendekatan linier dari sistem Persamaan tersebut diperoleh dengan menggunakan ekspansi Taylor di sekitar titik kesetimbangan \bar{x} , yaitu

$$\begin{aligned} f_1(x_1, x_2, \dots, x_n) &= f_1(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) + \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)(x_1 - \bar{x}_1) \\ &\quad + \dots + \frac{\partial f_1}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)(x_n - \bar{x}_n) + \varphi_{f_1}, \\ f_2(x_1, x_2, \dots, x_n) &= f_2(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) + \frac{\partial f_2}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)(x_1 - \bar{x}_1) \\ &\quad + \dots + \frac{\partial f_2}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)(x_n - \bar{x}_n) + \varphi_{f_2}, \\ &\quad \vdots \end{aligned} \tag{2.31}$$

$$f_n(x_1, x_2, \dots, x_n) = f_n(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) + \frac{\partial f_n}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)(x_1 - \bar{x}_1) \\ + \dots + \frac{\partial f_n}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)(x_n - \bar{x}_n) + \varphi_{f_n},$$

dengan φ_{f_i} merupakan suku-suku tak linier dari (2.31) yang didefinisikan sebagai berikut untuk $\mu_i = x_i - \bar{x}_i$:

$$\varphi_{f_i}(\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_n) = \frac{\mu_i^2}{2!} \frac{\partial^2 f_i}{\partial x_i^2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) + \frac{\mu_{i+1}^2}{2!} \frac{\partial^2 f_i}{\partial x_{i+1}^2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) + \\ \dots + \frac{\mu_n^2}{2!} \frac{\partial^2 f_i}{\partial x_n^2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) + \frac{\mu_i \mu_{i+1}}{2!} \frac{\partial^2 f_i}{\partial x_i \partial x_{i+1}}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) + \dots .$$

Karena diasumsikan x_i cukup dekat dengan \bar{x}_i , maka nilai $\mu_1, \mu_2, \dots, \mu_n$ sangat kecil. Hal ini menyebabkan φ_{f_i} yang memuat μ_i^2, μ_i^3, \dots untuk setiap $i = 1, 2, \dots, n$ juga kecil dan dapat diabaikan. Karena $(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n)$ merupakan titik kesetimbangan, maka $f_i(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) = 0$, untuk setiap $i = 1, 2, \dots, n$. Jika dimisalkan

$$\dot{\mu}_i = \frac{d\mu_i}{dt} = \frac{d(x_i - \bar{x}_i)}{dt},$$

maka Persamaan (2.31) dapat dituliskan sebagai berikut:

$$\begin{bmatrix} \frac{d\mu_1}{dt} \\ \frac{d\mu_2}{dt} \\ \vdots \\ \frac{d\mu_n}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \frac{\partial f_1}{\partial x_2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \frac{\partial f_2}{\partial x_2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \dots & \frac{\partial f_2}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \frac{\partial f_n}{\partial x_2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mu_1 \\ \mu_2 \\ \vdots \\ \mu_n \end{bmatrix}.$$

Matriks

$$J = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \frac{\partial f_1}{\partial x_2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \dots & \frac{\partial f_1}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \frac{\partial f_2}{\partial x_2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \dots & \frac{\partial f_2}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial f_n}{\partial x_1}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \frac{\partial f_n}{\partial x_2}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) & \dots & \frac{\partial f_n}{\partial x_n}(\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_n) \end{bmatrix}$$

disebut matriks Jacobi pada titik kesetimbangan \bar{x} .

Jika $\det(J) \neq 0$, maka kestabilan titik kesetimbangan sistem tak linier pada Persamaan (2.27) dapat dilihat dari sistem linier berikut:

$$\dot{\mu} = J\mu. \tag{2.32}$$

Sistem (2.32) kemudian disebut sebagai hasil linierisasi sistem (2.27) di sekitar titik kesetimbangan \bar{x} (Dikaningtyas, 2012) dalam (Sam,2021).

Teorema 2.3 (Olsder dan Woude, 2003)

Diberikan matriks J sebagai matriks Jacobi pada titik kesetimbangan \bar{x} dari sistem (2.32) dengan $\det(J) \neq 0$.

- Jika semua bagian real nilai eigen dari matriks J bernilai negatif, maka titik kesetimbangan \bar{x} dari sistem tak linier (2.27) stabil asimtotik lokal.
- Jika terdapat paling sedikit satu nilai eigen dari matriks J yang bagian realnya bernilai positif, maka titik kesetimbangan \bar{x} dari sistem tak linier (2.27) tidak stabil.

2.9 Matriks Stoikiometri

Matriks Stoikiometri (N) adalah matriks yang berisi informasi tentang semua transformasi metabolik termasuk dalamnya rekonstruksi metabolisme untuk mikroorganisme. Dalam praktiknya, matriks ini dibentuk dari koefisien Stoikiometri setiap reaksi metabolik. Dalam matriks Stoikiometri, jumlah baris merepresentasikan banyaknya substrat yang terlibat sedangkan jumlah kolom merepresentasikan banyaknya reaksi kimia.

Contoh 2.3:

Perhatikan sistem berikut dengan metabolit A, B, C dan D yang dapat diubah dengan mengikuti reaksi kesetimbangan berikut:



Sistem pada (2.33) dapat dituliskan dalam matriks Stoikiometri sebagai berikut:

$$N = \begin{pmatrix} -1 & 1 & -1 \\ -2 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & 0 \\ 1 & 0 & 1 \end{pmatrix}.$$

Hal yang perlu ditekankan adalah matriks Stoikiometri merupakan komponen penting untuk melanjutkan berbagai analisis komputasi dalam rekonstruksi metabolisme skala gen. Matriks Stoikiometri memainkan peran penting dalam menghitung produksi dan degradasi fluks untuk masing-masing metabolit yang

terlibat dalam metabolisme. Keseimbangan ini penting karena dapat menentukan keadaan dinamis konsentrasi metabolik dengan menyelesaikan Persamaan berikut:

$$\frac{ds}{dt} = Nv, \quad (2.34)$$

dimana $s = (s_1, s_2, \dots, s_m)^T$ adalah vektor kolom berdimensi m dari konsentrasi metabolit, N adalah matriks Stoikiometri berdimensi $m \times n$, $v = (v_1, v_2, \dots, v_n)^T$ adalah vektor kolom berdimensi n dari laju reaksi (Palsson, 2006).

2.10 Rank dan Nulitas Matriks

Dimensi ruang baris, ruang kolom dan ruang *null* dari suatu matriks merupakan hal penting yang memiliki notasi dan terminologi masing-masing.

Definisi 2.3 (Anton dan Rorres, 2014)

*Dimensi ruang baris dan ruang kolom dari matriks A disebut **rank** dari A dan dinotasikan dengan $\text{rank}(A)$, sedangkan dimensi dari ruang null dari matriks A disebut **nulitas** dari A dan dinotasikan dengan $\text{nulitas}(A)$.*

Contoh 2.4 (Anton dan Rorres, 2014)

Diberikan suatu matriks

$$A = \begin{bmatrix} -1 & 2 & 0 & 4 & 5 & -3 \\ 3 & -7 & 2 & 0 & 1 & 4 \\ 2 & -5 & 2 & 4 & 6 & 1 \\ 4 & -9 & 2 & -4 & -4 & 7 \end{bmatrix}.$$

Bentuk eselon baris tereduksi dari matriks A adalah

$$A' = \begin{bmatrix} 1 & 0 & -4 & -28 & -37 & 13 \\ 0 & 1 & -2 & -12 & -16 & 5 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{bmatrix}.$$

Dapat dilihat bahwa matriks tersebut memiliki 2 satu utama yang bermakna ruang baris dan kolomnya berdimensi dua serta $\text{rank}(A) = 2$. Untuk mencari nulitas dari A , harus dicari terlebih dahulu ruang solusi dari sistem Persamaan linier $Ax = \mathbf{0}$. Sistem ini dapat diselesaikan dengan mereduksi matriks diperbesarnya menjadi bentuk eselon baris tereduksi seperti yang ditunjukkan oleh matriks A' dan menambahkan kolom yang berisi nol di kolom terakhir, sehingga diperoleh sistem Persamaan

$$x_1 - 4x_3 - 28x_4 - 37x_5 + 13x_6 = 0,$$

$$x_2 - 2x_3 - 12x_4 - 16x_5 + 5x_6 = 0,$$

atau dapat dituliskan menjadi

$$x_1 = 4x_3 + 28x_4 + 37x_5 - 13x_6,$$

$$x_2 = 2x_3 + 12x_4 + 16x_5 - 5x_6.$$

Dengan demikian, dapat diperoleh solusi umumnya, yaitu:

$$x_1 = 4r + 28s + 37t - 13u, \quad x_3 = r, \quad x_5 = t,$$

$$x_2 = 2r + 12s + 16t - 5u, \quad x_4 = s, \quad x_6 = u,$$

atau dalam bentuk vektor kolom menjadi

$$\begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \\ x_4 \\ x_5 \\ x_6 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 4 \\ 2 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} r + \begin{bmatrix} 28 \\ 12 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} s + \begin{bmatrix} 37 \\ 16 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix} t + \begin{bmatrix} -13 \\ -5 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} u.$$

Karena terdapat 4 vektor yang merupakan basis dari ruang solusi, maka $\text{nulitas}(A) = 4$.

Misalkan matriks A dengan ukuran $m \times n$. *Rank* dari A sama dengan jumlah baris yang tak nol dari bentuk eselon tereduksi matriks A , sehingga dapat dikatakan $\text{rank}(A) \leq \min(m, n)$ dimana $\min(m, n)$ adalah minimum dari m & n .

Teorema 2.4 (Anton dan Rorres, 2014)

Jika A adalah matriks dengan n kolom, maka $\text{rank}(A) + \text{nulitas}(A) = n$.

Contoh 2.5 (Anton dan Rorres, 2014):

Matriks A pada contoh 2.5

$$A = \begin{bmatrix} -1 & 2 & 0 & 4 & 5 & -3 \\ 3 & -7 & 2 & 0 & 1 & 4 \\ 2 & -5 & 2 & 4 & 6 & 1 \\ 4 & -9 & 2 & -4 & -4 & 7 \end{bmatrix},$$

memiliki 6 kolom, maka $\text{rank}(A) + \text{nulitas}(A) = 6$. Hal ini bersesuaian dengan contoh 2.5, dimana telah ditunjukkan bahwa $\text{rank}(A) = 2$ dan $\text{nulitas}(A) = 4$.

2.11 Metabolic Control Analysis

Metabolic control analysis (MCA) pertama kali diperkenalkan tahun 1984 sebagai gabungan dari hasil pendekatan oleh Kacser dan Burns (1973) dan oleh Heinrich and Rapoport (1974) (Fell, 1992). Menurut (Hofmeyr, 2001), MCA adalah kerangka kerja kuantitatif yang berguna untuk memahami hubungan antara sifat

steady state dari jaringan reaksi biokimia secara keseluruhan dan sifat-sifatnya dari reaksi komponennya. Meskipun pada dasarnya analisis sensitivitas memberikan karakter tersendiri suatu sistem yang dinamis dan struktur Stoikiometri dari jaringan reaksi.

Perhatikan kembali Persamaan (2.34). Akan diterapkan eliminasi Gauss pada matriks N sehingga diperoleh bentuk eselon barisnya. Tujuannya adalah untuk menentukan baris-baris dari N yang tidak nol. Jika semua baris pada N bebas linier dan tidak nol, maka $r = m$ dimana r adalah rank dari N dan m adalah jumlah baris pada N . Jika $r < m$, maka ada sebanyak $m - r$ yang bergantung linier diantara Persamaan diferensial tersebut.

Dalam kondisi *steady-state*, Persamaan (2.34) akan sama dengan nol, sehingga diperoleh

$$\frac{ds}{dt} = Nv(s, p) = \mathbf{0}. \quad (2.35)$$

Pada saat yang bersamaan terdapat ketergantungan antara kolom-kolom dari N yang dituliskan

$$NK = \mathbf{0}, \quad (2.36)$$

dimana K adalah matriks kernel dari N yang masing-masing dari kolomnya merupakan vektor kolom dari basis ruang solusi Persamaan (2.36). Karena masing-masing kolom yang saling bergantung pada N merepresentasikan fluks bebas, maka dituliskan

$$J = KJ_i, \quad (2.37)$$

dimana J adalah vektor kolom berdimensi n dari semua fluks pada kondisi *steady state* dan J_i adalah vektor kolom berdimensi $n - r$ dari fluks bebas. Sehingga K memiliki dimensi $n \times (n - r)$.

(Jan-Hendrik S. Hofmeyr, 2001).

2.11.1 Koefisien Elastisitas

Koefisien elastisitas di gunakan untuk menghitung sensitivitas laju reaksi terhadap perubahan konsentrasi atau parameter dan mengukur efek langsung kecepatan reaksi. Elastisitas laju reaksi (v_k) terbagi menjadi 2 macam, yaitu perubahan laju reaksi terhadap konsentrasi suatu metabolit berupa substrat (S_i) dan

terhadap konsentrasi metabolit berupa produk. Elastisitas laju reaksi (v_k) terhadap konsentrasi suatu metabolit berupa substrat (S_i) dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

$$\varepsilon_i^k = \frac{S_i}{v_k} \frac{\partial v_k}{\partial S_i}. \quad (2.38)$$

Contoh 2.6 (Klipp, dkk 2005)

Misalkan dalam model glikolisis, laju reaksi 1 (v_1) bergantung pada konsentrasi ATP. Diberikan sensitivitas dengan elastisitas

$$\varepsilon_{ATP}^1 = \frac{ATP}{v_1} \frac{\partial v_1}{\partial ATP}. \quad (2.39)$$

Karena $v_1 = \frac{V_{maks,1}ATP}{K_{ATP,1} + ATP}$, maka Persamaan (2.39) dapat diselesaikan menjadi

$$\begin{aligned} \varepsilon_{ATP}^1 &= \frac{ATP}{v_1} \frac{\partial v_1}{\partial ATP} = \frac{ATP}{\frac{V_{maks,1}ATP}{K_{ATP,1} + ATP}} \frac{\partial}{\partial ATP} \left(\frac{V_{maks,1}ATP}{K_{ATP,1} + ATP} \right) \\ &= \frac{ATP}{\frac{V_{maks,1}ATP}{K_{ATP,1} + ATP}} \frac{(V_{maks,1}(K_{ATP,1} + ATP) - V_{maks,1}K_{ATP,1})}{(K_{ATP,1} + ATP)^2} \\ \varepsilon_{ATP}^1 &= \frac{ATP}{K_{ATP,1} + ATP}. \end{aligned} \quad (2.40)$$

Elastisitas semua laju reaksi lainnya yang berhubungan dengan konsentrasi metabolit apa pun dapat dihitung dengan cara yang sama.

2.11.2 Koefisien Kontrol

Koefisien kontrol merupakan salah satu koefisien dalam *metabolic control analysis* yang menghitung sensitivitas laju reaksi pada kondisi *steady state*, baik pada substrat maupun pada laju reaksinya. Laju reaksi pada kondisi *steady state* disebut sebagai fluks. Koefisien kontrol mengukur kontrol yang diberikan oleh reaksi v_k pada fluks *steady state* J atau pada konsentrasi *steady state* S_i . Gangguan yang cukup kecil terhadap laju reaksi individu ($v_k \rightarrow v_k + \Delta v_k$) mengakibatkan perubahan pada laju reaksi *steady state*-nya baik pada reaksi yang lain maupun reaksi dirinya sendiri. Perubahan fluks pada saat *steady state* dinotasikan dengan $J \rightarrow J + \Delta J$ dimana $J = v(S(p), p)$, sedangkan perubahan konsentrasi substrat pada

saat *steady state* dinyatakan sebagai $S \rightarrow S + \Delta S$, dimana $S = S(p)$. Kedua perubahan inilah yang disebut dengan koefisien kontrol.

Koefisien kontrol fluks untuk laju reaksi v_k terhadap fluks J_j didefinisikan sebagai

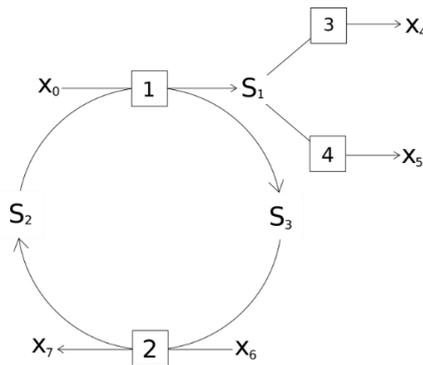
$$C_k^j = \frac{v_k}{J_j} \frac{\partial J_j}{\partial v_k}, \tag{2.41}$$

sedangkan koefisien kontrol konsentrasi S_i terhadap v_k dituliskan

$$C_k^i = \frac{v_k}{S_i} \frac{\partial S_i}{\partial v_k}. \tag{2.42}$$

Contoh 2.8 (Hofmeyr, 2001):

Gambar 2.7 merupakan contoh dari salah satu jaringan reaksi yang terdiri atas 3 substrat dan 4 reaksi. Dari contoh ini, akan ditunjukkan langkah-langkah pengerjaan dalam metode MCA.



Gambar 2. 7 Contoh Jaringan Reaksi (Hofmeyr, 2001)

Langkah pertama adalah menuliskan matriks Stoikiometri N untuk sistem ini. Kemudian, matriks N diperluas dengan menambahkan sebuah matriks identitas yang mana setiap kolomnya merepresentasikan turunan terhadap waktu. Perhatikan bahwa hanya variable metabolit s_i yang direpresentasikan. Konsentrasi metabolit X harus konstan untuk sebuah *steady state*.

Maka dari itu, jaringan reaksi pada Gambar 2.6 dapat disajikan sebagai berikut

	v_1	v_2	v_3	v_4	\dot{s}_1	\dot{s}_2	\dot{s}_3
s_1	1	0	-1	-1	1	0	0
s_2	-1	1	0	0	0	1	0
s_3	1	-1	0	0	0	0	1

atau dapat dituliskan dalam bentuk matriks $(N|I)$

$$(N|I) = \left(\begin{array}{cccc|ccc} 1 & 0 & -1 & -1 & 1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & -1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{array} \right). \quad (2.43)$$

Selanjutnya, akan diterapkan eliminasi Gauss pada matriks di Persamaan (2.43) untuk memperoleh bentuk eselon barisnya. Sehingga diperoleh

$$\left(\begin{array}{cccc|ccc} 1 & 0 & -1 & -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & -1 & -1 & 1 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 \end{array} \right). \quad (2.44)$$

Dapat dilihat bahwa baris tidak nol atau rank dari matriks Stoikiometri (N) adalah 2. Ini artinya terdapat dua fluks bebas. Selanjutnya pilih J_3 dan J_4 (kolom 3 dan 4 matriks bagian kiri pada Persamaan (2.44) sebagai fluks bebas. Matriks K diperoleh dari hubungan fluks $J = KJ_i$, yaitu

$$J = KJ_i,$$

$$\begin{bmatrix} J_3 \\ J_4 \\ J_1 \\ J_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} J_3 \\ J_4 \\ J_3 + J_4 \\ J_3 + J_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 1 \\ 1 \end{bmatrix} J_3 + \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \\ 1 \\ 1 \end{bmatrix} J_4 = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 1 & 1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} J_3 \\ J_4 \end{bmatrix}. \quad (2.45)$$

Dari Persamaan (2.45) dapat diperoleh matriks kernel (K), yaitu

$$K = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 1 & 1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix}.$$

Selanjutnya akan dicari matriks \mathcal{K} (normalisasi dari matriks kernel K), dimana

$$\mathcal{K} = (D^J)^{-1} K D^{J_i}.$$

$$\mathcal{K} = (D^J)^{-1} K D^{J_i} = \begin{bmatrix} \frac{1}{J_3} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{J_4} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{J_1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \frac{1}{J_2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 1 & 1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} J_3 & 0 \\ 0 & J_4 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ \frac{J_3}{J_1} & \frac{J_4}{J_1} \\ \frac{J_3}{J_2} & \frac{J_4}{J_2} \end{bmatrix}. \quad (2.46)$$

Kemudian, pilih S_3 sebagai metabolit tidak bebas. Selanjutnya, akan ditentukan matriks link L dengan mengikuti hubungan $\dot{\mathbf{s}} = L\dot{\mathbf{s}}_i$, sehingga diperoleh

$$\begin{bmatrix} \dot{s}_1 \\ \dot{s}_2 \\ \dot{s}_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \dot{s}_1 \\ \dot{s}_2 \\ -\dot{s}_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \dot{s}_1 + \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \\ -1 \end{bmatrix} \dot{s}_2 = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \dot{s}_1 \\ \dot{s}_2 \end{bmatrix}. \quad (2.47)$$

Dari Persamaan (2.47) telah diperoleh matriks link, $L = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & -1 \end{bmatrix}$. Selanjutnya akan ditentukan matriks \mathcal{L} yang merupakan hasil normalisasi dari matriks L dan dapat diperoleh dari hubungan $\mathcal{L} = (D^s)^{-1}LD^{s_i}$.

$$\mathcal{L} = (D^s)^{-1}LD^{s_i} = \begin{bmatrix} \frac{1}{s_1} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{1}{s_2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{1}{s_3} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & -1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} s_1 & 0 \\ 0 & s_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & -\frac{s_2}{s_3} \end{bmatrix}. \quad (2.48)$$

Selanjutnya, akan ditentukan matriks elastisitas, $M_\varepsilon = \varepsilon_s \mathcal{L}$.

$$M_\varepsilon = \varepsilon_s \mathcal{L} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{s_1}^{v_3} & 0 & 0 \\ \varepsilon_{s_1}^{v_4} & 0 & 0 \\ \varepsilon_{s_1}^{v_1} & \varepsilon_{s_2}^{v_1} & \varepsilon_{s_3}^{v_1} \\ 0 & \varepsilon_{s_2}^{v_2} & \varepsilon_{s_3}^{v_2} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \\ 0 & -\frac{s_2}{s_3} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \varepsilon_{s_1}^{v_3} & 0 \\ \varepsilon_{s_1}^{v_4} & 0 \\ \varepsilon_{s_1}^{v_1} & \varepsilon_{s_2}^{v_1} - \varepsilon_{s_3}^{v_1} \frac{s_2}{s_3} \\ 0 & \varepsilon_{s_2}^{v_2} - \varepsilon_{s_3}^{v_2} \frac{s_2}{s_3} \end{bmatrix}. \quad (2.49)$$

Kemudian menentukan matriks kontrol untuk fluks, C^J dan konsentrasi, C^s yang dapat diperoleh sebagai berikut:

$$\begin{aligned} \begin{pmatrix} C^J \\ C^s \end{pmatrix} (\mathcal{K} - M_\varepsilon) &= \begin{pmatrix} C_3^{J_3} & C_4^{J_3} & C_1^{J_3} & C_2^{J_3} \\ C_3^{J_4} & C_4^{J_4} & C_1^{J_4} & C_2^{J_4} \\ C_3^{s_1} & C_4^{s_1} & C_1^{s_1} & C_2^{s_1} \\ C_3^{s_2} & C_4^{s_2} & C_1^{s_2} & C_2^{s_2} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 & 0 & -\varepsilon_{s_1}^{v_3} & 0 \\ 0 & 1 & -\varepsilon_{s_1}^{v_4} & 0 \\ \frac{J_3}{J_1} & \frac{J_4}{J_1} & -\varepsilon_{s_1}^{v_1} & -\varepsilon_{s_2}^{v_1} + \varepsilon_{s_3}^{v_1} \frac{s_2}{s_3} \\ \frac{J_3}{J_2} & \frac{J_4}{J_2} & 0 & -\varepsilon_{s_2}^{v_2} + \varepsilon_{s_3}^{v_2} \frac{s_2}{s_3} \end{pmatrix} \\ &= \begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}. \end{aligned}$$