

Strategi Pengoptimuman Lanjutan untuk Meningkatkan Penghasilan Biohidrogen Foto-fermentasi oleh Bakteria Ungu Bukan Sulfur

(Advanced Optimization Strategies to Enhance Photo-fermentative Biohydrogen Production by Non-Sulfur Purple Bacteria)

MING FOONG TIANG¹, ARINA ATIQA AZHAR¹, MUHAMMAD ALIF FITRI HANIPA¹, PEER MOHAMED ABDUL^{1,2,*}, MOHD SHAIFUL SAJAB^{1,2}, DARMAN NORDIN¹, SAFA SENAN MAHMUD¹, ABDULLAH AMRU INDERA LUTHFI¹ & JAMALIAH MD. JAHIM^{1,2}

¹*Department of Chemical and Process Engineering, Faculty of Engineering and Built Environment, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia*

²*Research Centre for Sustainable Process Technology (CESPRO), Faculty of Engineering and Built Environment, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia*

Diserahkan: 29 September 2021/Diterima: 16 Jun 2022

ABSTRAK

Proses foto-fermentasi ialah suatu laluan penghasilan hidrogen yang menarik. Walau bagaimanapun, didapati bahawa kecekapan penukaran cahaya dan penghasilan biohidrogen foto-fermentasi oleh bakteria ungu bukan sulfur (PNSB) adalah sangat rendah. Maka, pelbagai pendekatan pengoptimuman telah dikaji bagi meningkatkan penghasilan foto-hidrogen dan prestasi keseluruhannya. Ulasan ini membincangkan strategi pengoptimuman lanjutan untuk meningkatkan penghasilan biohidrogen foto-fermentasi secara menyeluruh. Antara strategi yang dibincangkan merangkumi pengoptimuman makronutrien dalam media penghasilan biohidrogen, faktor abiotik dan rejim pencahayaan semasa proses foto-fermentasi berlaku. Pendekatan ini menunjukkan keputusan positif dalam meningkatkan penghasilan foto-hidrogen oleh PNSB. Pendekatan gabungan yang mengintegrasikan strategi pengoptimuman individu yang berbeza dipercayai mungkin dapat mendatangkan peningkatan yang sinergistik terhadap produktiviti dan hasil biohidrogen foto-fermentasi oleh PNSB.

Kata kunci: Bakteria ungu bukan sulfur; faktor abiotik; foto-fermentasi; media penghasilan biohidrogen; rejim pencahayaan

ABSTRACT

Photo-fermentation seems to be an attractive hydrogen production route. However, the light conversion efficiency and photo-fermentative biohydrogen production of purple non-sulphur bacteria (PNSB) are suboptimally low, and hence, various optimisation approaches are investigated to improve overall performance and photo-hydrogen production. This review presents an overview of the optimisation strategies applied to enhance the photo-fermentative biohydrogen production. Among the strategies discussed include the optimisation of the macronutrient in biohydrogen production medium, abiotic factors and the lighting regime during photo-fermentation. These approaches show positive results in the enhancement of photo-hydrogen production by PNSB. It is believed that the combined approach of integrating individual strategies will be able to bring synergistic improvement on the productivity and biohydrogen yield of photo-fermentation by PNSB.

Keywords: Abiotic factors; biohydrogen production medium; lighting regime; photo-fermentation; purple non-sulphur bacteria

PENGENALAN

Kebergantungan yang besar terhadap penggunaan bahan bakar fosil sebagai sumber tenaga utama di seluruh dunia menyebabkan timbulnya isu kekurangan bahan tersebut secara signifikan. Justeru, kesedaran terhadap kepentingan

pembangunan sumber tenaga alternatif atau teknologi hijau amat disarankan bagi menggantikan bahan bakar fosil yang tidak boleh diperbaharui ini pada masa akan datang (Jafary et al. 2019; Maaroff et al. 2019).

Hidrogen (H_2) merupakan salah satu pembawa tenaga alternatif mampan yang semakin mendapat perhatian para saintis dan masyarakat. Hal ini berikutan potensinya sebagai bahan bakar bukan karbon yang bermanfaat untuk kegunaan pada masa hadapan (Azizi et al. 2019). H_2 juga dikenali sebagai bahan bakar alternatif yang bersih dan boleh diperbaharui kerana semasa pembakaran gas tersebut, hanya air yang dihasilkan sebagai produk utama tanpa sebarang pelepasan gas rumah hijau ke atmosfera (Hanipa et al. 2020). Selain itu, gas H_2 mempunyai jumlah ketumpatan tenaga sebanyak 122 hingga 142 kJ/g, iaitu kira-kira 2.75 kali lebih tinggi daripada bahan bakar hidrokarbon biasa (Mahmod, Jahim & Abdul 2017). Sehingga kini, sebanyak 88% H_2 dihasilkan secara komersial melalui proses reformasi atau pemecahan terma gas asli dan penapisan petroleum atau minyak ringan dengan wap pada suhu yang tinggi (Abdul et al. 2013; Łukajtis et al. 2018). Walau bagaimanapun, terdapat beberapa halangan yang dihadapi menerusi pelaksanaan kaedah tersebut. Antaranya termasuklah penggunaan sumber atau proses yang tidak boleh diperbaharui, tidak bersifat lestari dan kurang mesra alam (Arimi et al. 2015). Oleh itu, bagi mengatasi kekangan tersebut, penggunaan mikroorganisma yang mampu menghasilkan pembawa tenaga yang lebih mesra alam dengan kuantiti yang mencukupi boleh dilakukan untuk menggantikan bahan bakar fosil (Pandey et al. 2019).

Penghasilan hidrogen biologi (bio- H_2) merupakan satu alternatif yang menarik dan bersesuaian dalam kerangka teknologi yang boleh diperbaharui pada masa kini. Ia juga bersifat lestari dan lebih selamat berbanding kaedah komersial sedia ada (Sivagurunathan et al. 2016). Selain itu, kaedah penghasilan bio- H_2 ini menawarkan pelbagai manfaat. Misalnya, ia menggunakan sumber yang boleh diperbaharui, dapat beroperasi pada suhu dan tekanan ambien, melibatkan kos pengoperasian yang rendah, serta sisa buangnya mengandungi karbohidrat dan asid organik (Arisht et al. 2019; Jalil et al. 2019).

Kebanyakan pendekatan bioteknologi terkini sering diaplikasikan untuk pelbagai tujuan tertentu dan turut dijadikan sebagai alternatif yang lebih mampan bagi menghasilkan bio- H_2 (Anwar et al. 2019; Kumar et al. 2016). Kaedah fermentasi gelap dan kaedah foto-fermentasi merupakan antara kaedah penghasilan bio- H_2 yang paling banyak dikaji. Kaedah fermentasi gelap melalui proses tidak bersandar cahaya adalah lebih praktikal disebabkan oleh faktor keluwesan dan kesederhanaannya. Namun demikian, secara umumnya, kaedah foto-fermentasi melalui proses bersandar cahaya

lebih efisien berbanding kaedah fermentasi gelap. Hal ini kerana ia dapat mencapai hasil bio- H_2 yang lebih tinggi, mencapai hasil penukaran substrat yang lebih tinggi, menggunakan pelbagai spektrum cahaya dan menggunakan pelbagai sisa organik (Akroum-Amrouche et al. 2013; Zhang & Zhang 2018).

Penghasilan bio- H_2 melalui kaedah foto-fermentasi melibatkan proses biologi dengan pelbagai bakteria fotosintetik yang tumbuh secara heterotrofik dapat mensintesis H_2 daripada pelbagai asid lemak meruap (VFA) atau air buangan yang kaya dengan asid organik di bawah pencahayaan yang baik dan dalam keadaan anaerobik (Jadual 1) (Reungsang et al. 2018; Uyar et al. 2012). Dalam bahagian berikutnya, fokus akan diberikan kepada strategi untuk memaksimumkan penghasilan bio- H_2 melalui proses foto-fermentasi, seperti pengoptimuman makronutrien dalam media penghasilan hidrogen (HPM), faktor abiotik dan rejim pencahayaan.

STRATEGI UNTUK MENINGKATKAN PENGHASILAN BIOHIDROGEN FOTO-FERMENTASI PENGUBAHSUAIAN MAKRONUTRIEN PADA MEDIA PENGHASILAN BIOHIDROGEN

Sehingga kini, kebanyakan kerja awal penghasilan bio- H_2 oleh strain PNSB yang baru dipencilkan merangkumi usaha menentukan jenis dan kepekatan awalan sumber substrat karbon dan nitrogen yang optimal (Assawamongkolsiri & Reungsang 2015; Chen et al. 2017; Laocharoen & Reungsang 2014). Sebagaimana mikroorganisma lain, sumber karbon dan nitrogen adalah makronutrien yang paling penting dalam mod pertumbuhan fotoheterotrofik oleh PNSB bagi menghasilkan bio- H_2 (Jadual 2).

Pelbagai sumber karbon seperti kebanyakan asid lemak rantai pendek, serta beberapa karbohidrat sederhana dan alkohol telah diuji pada kepekatan yang berbeza untuk mencirikan *Rhodobacter sphaeroides* ZX-5 yang baru dipencilkan. Asid organik seperti malat, suksinat, butirir, propionat, laktat dan asid piruvik merupakan antara substrat yang paling disukai oleh bakteria penghasil H_2 terutamanya *Rhodobacter* sp. Kajian terdahulu melaporkan kepekatan optimum bagi penghasilan H_2 adalah sebanyak 30 mM malat (Assawamongkolsiri, Plangklang & Reungsang 2016; Laocharoen & Reungsang 2014; Tao et al. 2008). Sementara itu, kepekatan optimum dalam suksinat, laktat, butirir dan asid piruvik bagi penghasilan bio- H_2 oleh *R. sphaeroides* ZX-5 pula berjumlah 50 mM (Tao et al. 2008).

JADUAL 1. Pengajian dahulu terhadap penghasilan biohidrogen melalui foto-fermentasi

Inokulum	Sumber karbon	Suhu (°C)	Pengadukan (rpm)	Keamatan cahaya (klux)	Hasil hidrogen maksimum	Rujukan
<i>Rhodobacter capsulatus</i> JP91	Glukosa	30.0	-	21.0	5.5 ± 0.15 mol H ₂ /mol glukosa	Ghosh et al. (2012)
<i>Rhodobacter</i> sp. KKU-PS1	Air buangan kilang pemprosesan gula	25.6	150	7.5	2614 ± 121.76 mL H ₂ /L	Assawamongkholsiri et al. (2018)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> CNT 2A	VFA rangkaian pendek (asetat and butirat)	30.0	-	2.2	2.1 ± 0.2 - 2.9 ± 0.2 mol H ₂ /mol VFA	Subudhi et al. (2016)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> DSMZ-158	Gandum tanah	30.0	100	3.0	0.97 mol H ₂ /mol glukosa	Kapdan et al. (2009)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> RV	Asetat	32.0	-	3.6	653.2 mmol H ₂ /mol asetat	Han et al. (2013)
<i>Rhodopseudomonas</i> sp. nov. strain A7	Asetat	35.0	120	18.0	160 mL H ₂ /60 mL vesel	Liu et al. (2015)

Selain itu, kepekatan asetat optimum yang lebih rendah (35 mM) telah diperhatikan dalam kajian Tao et al. (2008) berbanding kepekatan asetat optimum bagi strain yang sama seperti yang telah dibuktikan oleh Zhu et al. (2010). Hal ini berkemungkinan disebabkan oleh perbezaan sumber nitrogen yang telah digunakan dalam kedua-dua kajian tersebut. Di samping itu, strain PNSB yang lain iaitu *Rhodopseudomonas palustris* menunjukkan kepekatan asetat optimum lebih tinggi iaitu pada 50 mM (3 g/L) serta 44.7 mM malat (Hu Choy & Giannis 2018). Walau bagaimanapun, kepekatan optimum lebih rendah telah dikenal pasti dalam butirat dan laktat iaitu masing-masing dicatatkan pada 22.7 dan 27.8 mM (Hu Choy & Giannis 2018).

Sungguhpun PNSB dapat menggunakan karbohidrat ringkas seperti heksosa dan pentosa, prestasinya daripada segi hasil dan kadar penghasilan H₂ dilihat lebih rendah jika dibandingkan dengan penggunaan asid organik (Tao et al. 2008). Keutamaan terhadap asid organik dapat dijelaskan menerusi pembebasan H⁺_(aq) dalam tindak balas pengikatan nitrogen oleh nitrogenase (Magnin & Deseure 2019).

Selain sumber karbon seperti yang telah dihuraikan sebelum ini, pengoptimuman sumber nitrogen adalah amat penting bagi memastikan keberkesanan sesuatu proses foto-fermentasi. Lazimnya, penghasilan bio-H₂ dikawal oleh enzim nitrogenase yang bertanggungjawab terhadap proses pengikatan nitrogen (Basak et al. 2014; Hay et al. 2013).

Pelbagai sumber nitrogen dapat mempengaruhi penghasilan bio-H₂ dengan ketara (Basak et al. 2014). Contohnya, glutamat muncul sebagai sumber nitrogen terbaik dalam pelbagai kajian terdahulu yang menggunakan strain PNSB berlainan (Basak et al. 2014; Laocharoen & Reungsang 2014; Tao et al. 2008). Namun, kehadiran ion ammonium sering merencat aktiviti dan pengekspresan gen nitrogenase. Maka, sumber nitrogen berasaskan ammonium bukanlah sumber nitrogen terbaik dalam penghasilan bio-H₂ (Koku et al. 2002). Pada masa yang sama, kepekatan sumber nitrogen lebih boleh membawa kepada pengumpulan ammonia yang menghalang penghasilan H₂ (Hillmer & Gest 1977; Koku et al. 2002). Ammonium sulfat pada kepekatan lebih rendah (di bawah 5 mM) masih boleh digunakan

JADUAL 2. Jenis makronutrien (sumber karbon dan nitrogen) yang dioptimumkan dalam penghasilan biohidrogen fotofermentasi

PNSB	Karbon	Kepekatan (mM)	Hasil H ₂	Rujukan
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS1	Malat	2.0	881 mL H ₂ /L	Assawamongkholsiri & Reungsang (2015)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS5	Malat	30.0	860 mL/L	Laocharoen & Reungsang (2014)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS1	Malat	17.6	2214 mL/L	Assawamongkholsiri Plangklang & Reungsang (2016)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Suksinat	50.0	223 mL/35 mL	Tao et al. (2008)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Butirat	35.0	324 mL/35 mL	Tao et al. (2008)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Asetat	50.0	1886.1 mL/L	Hu, Choy & Giannis (2018)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Malat	44.7	1644.9 mL/L	Hu, Choy & Giannis (2018)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Butirat	22.7	2153.7 mL/L	Hu, Choy & Giannis (2018)
PNSB	Nitrogen	Kepekatan (mM)	Hasil H ₂	Rujukan
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Laktat	27.8	1670.7 mL/L	Hu, Choy & Giannis (2018)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS5	Glutamat	2.0 mM of N	996 mL H ₂ /L	Laocharoen & Reungsang (2014)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS1	Glutamat	2.0 mM of N	881 mL/L	Assawamongkholsiri & Reungsang (2015)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	L-Glutamat	7.0	123 mL /35 mL	Tao et al. (2008)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	Etanolamina	2.0	97 mL /35 mL	Tao et al. (2008)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS5	Aji-L	2.0 mM of N	1008 mL/L	Laocharoen & Reungsang (2014)

sebagai sumber nitrogen walaupun penghasilan bio-H₂ disekat secara drastik pada 7 mM (Tao et al. 2008). Selain itu, penggunaan etanolamina pada kepekatan yang lebih rendah (2 mM pada setiap 30 mM malat) meningkatkan penghasilan H₂ yang lebih tinggi daripada glutamat. Namun begitu, penghasilan bio-H₂ menjadi berkurangan meskipun biojisim menunjukkan trend berbeza apabila berlakunya peningkatan kepekatan etanolamina (Tao et al. 2008).

R. sphaeroides KKU-PS5 yang ditambah dengan natrium nitrat (NaNO₃) pula menunjukkan profil penghasilan H₂ yang sama dengan ammonium klorida (NH₄Cl). Keadaan ini menyokong evolusi bio-H₂ sebelum mencapai kemuncak pada 600 mL H₂/L, iaitu lebih rendah daripada nilai uji kaji kawalan (tanpa tambahan sumber nitrogen) (Laocharoen & Reungsang 2014). Walau bagaimanapun, kepantasan kadar penghasilan H₂ oleh strain KKU-PS5 dengan NaNO₃ dan NH₄Cl daripada uji kaji kawalan ini berkemungkinan terjadi kerana kadar pertumbuhan bakteria yang pesat (Laocharoen & Reungsang 2014). Namun begitu, natrium nitrit (NaNO₂) mengalami fasa lamban yang lebih lama dan hasil H₂ yang lebih rendah daripada nilai kawalan (Laocharoen & Reungsang 2014). Keperluan pengoksidaan ion nitrit kepada ion nitrat semasa proses pertumbuhan dalam keadaan anaerobik juga boleh mengakibatkan fasa lamban yang lebih panjang (Tarabas, Hnatush & Moroz 2019).

Nisbah sumber karbon kepada sumber nitrogen (C/N) turut diuji (Basak et al. 2014; Koku et al. 2002) berikutan kemungkinan faktor kepekatan optimum sumber nitrogen dipengaruhi oleh tahap sumber karbon yang digunakan (Eroğlu et al. 1999). Penghasilan H₂ oleh *R. sphaeroides* O.U.001 dijalankan secara optimum menggunakan nisbah C/N iaitu 15 mM : 2 mM (Eroğlu et al. 1999). Nisbah C/N yang optimum juga menunjukkan perbezaan ketara dengan kehadiran sumber nitrogen yang berlainan (Pandey, Srivastava & Sinha 2012). Misalnya, penggunaan ammonium sulfat sebagai sumber nitrogen mencatatkan nisbah C/N yang tinggi iaitu 30:1 (mol:mol) berbanding glutamat iaitu hanya 13:1 (mol:mol) (Pandey Srivastava & Sinha 2012).

FAKTOR ABIOTIK DALAM PROSES FOTO-FERMENTASI

Faktor pH memainkan peranan penting untuk mengawal metabolisme dalam PNSB kerana aktiviti enzim dipengaruhi oleh nilai pH secara signifikan (Koku et al. 2002). Sebagai contoh, aktiviti nitrogenase untuk *A. vinelandii* adalah optimum pada nilai pH

7.1 hingga 7.3 (Koku et al. 2002). Bagi proses berkelompok tanpa kawalan pH, pH awal boleh dioptimumkan untuk mencapai penghasilan bio-H₂ tertinggi (Assawamongkholsiri & Reungsang 2015; Laocharoen & Reungsang 2014). Kajian terdahulu melaporkan pH optimum bagi penghasilan bio-H₂ bernilai antara pH 6.5 dan 7.5 (Nath & Das 2009; Tao et al. 2008). Kedua-dua strain *R. sphaeroides* KKU-PS1 dan KKU-PS5 pula dioptimumkan pada pH awal 7.0 (Assawamongkholsiri & Reungsang 2015; Laocharoen & Reungsang 2014). Penghasilan H₂ daripada effluen fermentasi gelap (DFE) oleh *R. sphaeroides* O.U.001 adalah optimum pada pH 6.5 (Nath & Das 2009). Konsortium bakteria fotosintetik yang terdiri daripada *R. sphaeroides*, *Rhodospirillum rubrum*, *R. capsulata*, *R. palustris* dan *R. capsulatus* juga optimum pada nilai pH 7.0 sungguhpun mempunyai profil penggunaan gula yang sama pada pH awal 6.0 hingga 9.0 (Jiang et al. 2016). Selain itu, strain PNSB yang berlainan boleh mempunyai toleransi yang berbeza daripada nilai pH, dengan *R. sphaeroides* ZX-5 menunjukkan hasil H₂ yang hampir serupa dan kadar penghasilan H₂ maksimum pada pH awal 6.0 hingga 9.0 (Tao et al. 2008).

Selain itu, suhu merupakan salah satu faktor paling penting bagi mengawal prestasi enzim, terutamanya nitrogenase yang optimum pada suhu 30 °C (Koku et al. 2002). Oleh itu, kebanyakan strain PNSB terpencil yang dilaporkan dalam kajian lepas mengenai penghasilan H₂ adalah mesofilik dan menunjukkan prestasi terbaik dalam julat suhu antara 25 °C hingga 35 °C (Assawamongkholsiri & Reungsang 2015; Chen et al. 2017). Penghasilan bio-H₂ oleh *R. sphaeroides* KKU-PS1 didapati optimum pada suhu 25.6 °C (Assawamongkholsiri & Reungsang 2015) dan strain *R. sphaeroides* DSM 1710 pula adalah optimum pada suhu yang hampir sama iaitu 26.8 °C (Androga et al. 2014). Sementara itu, kultur campuran bakteria fotoheterotrofik dioptimumkan pada suhu yang sedikit tinggi iaitu 35 °C (Chen et al. 2017). Justeru, konsortium bakteria fotosintetik telah menunjukkan bahawa keadaan optimum pada suhu sedikit termofilik (39.6 °C) dapat menghasilkan kadar H₂ tertinggi (Hu et al. 2017). Bahkan penghasilan H₂ didapati lebih tinggi pada suhu 54.5 °C berbanding pada 28.2 °C (Hu et al. 2017) yang terletak dalam julat suhu optimum normal (25 °C hingga 35 °C) (Assawamongkholsiri & Reungsang 2015; Laocharoen & Reungsang 2014; Tao et al. 2008). Prestasi pada suhu yang lebih tinggi boleh diperhatikan melalui tindak balas foto-fermentasi endotermik dan entropi daripada glukosa kepada bio-H₂ (Hu et al. 2017).

Parameter lain yang diselidik dalam penambahbaikan prestasi penghasilan bio- H_2 merangkumi usaha pengoptimuman fizikal, iaitu proses pengadukan dan pengawalan tekanan (Li et al. 2011; Magnin & Deseure 2019; Mishra et al. 2018). Pengadukan dapat membantu proses pemindahan jisim nutrien dan substrat dengan lebih cekap (Li et al. 2011). Sejumlah 121 mL H_2 bagi setiap 34 mL kultur diperoleh setinggi 165.9 mL H_2 /L/j daripada 30 mM asid malik menerusi proses pengadukan pada 120 rpm (Li et al. 2011). Mishra et al. (2018) pula menemui penghasilan H_2 yang optimum daripada DFE menggunakan efluen kilang minyak sawit

(POME) pada 200 rpm. Sementara itu, hasil HPR dan H_2 maksimum masing-masing ditingkatkan sebanyak 188.9% dan 83.0% apabila pengadukan pada 240 rpm dilakukan kepada kultur *R. palustris* PB-Z (Sun, Lv & Liu 2015). Dalam kajian lain, peningkatan penghasilan H_2 telah diperhatikan pada tekanan 0.944×10^5 Pa. Hal ini kerana penghasilan H_2 menunjukkan trend menaik dengan tekanan ruang kepala yang lebih rendah (Li et al. 2011). Sebaliknya Magnin dan Deseure (2019) melaporkan hasil yang berbeza kerana penghasilan H_2 yang lebih tinggi diperhatikan dalam ruang kepala yang bertekanan tinggi (Jadual 3).

JADUAL 3. Aplikasi faktor abiotik yang optimum dalam foto-fermentasi

PNSB	pH	Hasil H_2	Rujukan
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS1	7.0	1339 mL H_2 /L	Assawamongkholsiri & Reungsang (2015)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS5	7.0	852 mL H_2 /L	Laoscharoen & Reungsang (2014)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ZX-5	7.0	128 mL H_2 /35 mL	Tao et al. (2008)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> O.U.001	6.5	2150 mL H_2 /L	Nath & Das (2009)
Konsortium bakteria fotosintetik	7.0	2300 mL/L	Jiang et al. (2016)
PNSB	Suhu ($^{\circ}$ C)	Hasil H_2	Rujukan
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS1	25.6	1339 mL/L	Assawamongkholsiri & Reungsang (2015)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> DSM 1710	26.8	0.326 mol/mol	Androga et al. (2014)
Kultur campuran bakteria fotoheterotrofik	35.0	4.239 L/L	Chen et al. (2017)
Konsortium bakteria fotosintetik	39.6	3.6 L/L/d	Hu et al. (2017)
PNSB	Pengadukan (rpm)	Hasil H_2	Rujukan
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ZX-5	120	121 mL /34 mL	Li et al. (2011)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	200	3.07 mol/mol	Mishra et al. (2018)
<i>R. palustris</i> PB-Z	240	1728.1 mol/L	Sun, Lv & Liu (2015)
PNSB	Tekanan (Pa)	Hasil H_2	Rujukan
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ZX-5	0.944×10^5	131 mL/34 mL	Li et al. (2011)

REJIM PENCAHAYAAN DALAM PROSES FOTO-FERMENTASI

Pencahayaan merupakan salah satu faktor utama dalam proses foto-fermentasi, kerana proses tersebut sangat bergantung kepada kehadiran tenaga cahaya untuk menjana tenaga adenosina trifosfat (ATP) yang diperlukan dalam penghasilan H_2 oleh tindakan nitrogenase (Hay et al. 2013). Justeru, salah satu usaha pengoptimuman yang dianggap mudah adalah dengan memanipulasi keamatan cahaya. Keamatan cahaya menentukan kadar pemindahan tenaga ke PNSB bagi mengatasi tenaga pengaktifan dalam usaha untuk melakukan proses foto-fermentasi (Hu et al. 2017; Magnin & Deseure 2019). Di samping itu, pelbagai kajian pengoptimuman mengenai keamatan cahaya telah dijalankan dengan pelbagai strain PNSB. Hal ini berikutan strain yang berlainan memiliki titik penepuan cahaya yang berbeza (Basak et al. 2014; Hallenbeck & Liu 2016). Strain *R. sphaeroides* KKU-PS1 dan KKU-PS5 masing-masing adalah optimum pada 7.5 dan 6.0 klux (Assawamongkhol Siri & Reungsang 2015; Laocharoen & Reungsang 2014). Sementara itu, Androga et al. (2014) melaporkan penghasilan H_2 yang optimum oleh *R. capsulatus* DSM 1710 iaitu di bawah pencahayaan pada 285 hingga 287 W/m^2 . Akroum-Amrouche et al. (2011) juga menemui hubungan yang lebih kukuh antara pertumbuhan dan penghasilan H_2 oleh *R. sphaeroides* CIP 60.6 pada keamatan cahaya yang lebih rendah daripada 2.5 klux (1.0 klux). Hal ini kerana pembentukan hasil H_2 disebabkan oleh proses pertumbuhannya sahaja.

Sementara itu, air buangan penyulingan cair yang melebihi 40% akan menurunkan hasil H_2 . Perkara ini disebabkan oleh kadar penembusan cahaya yang lemah (Laurinavichene et al. 2018). Gabungan kedua-dua proses foto-fermentasi dan fermentasi gelap (peringkat tunggal) juga memerlukan keamatan cahaya yang lebih tinggi (Argun & Kargi 2010a, 2010b). Keamatan cahaya pada 10 klux didapati adalah optimum dalam proses gabungan *R. sphaeroides* RV (Argun & Kargi 2010a, 2010b). Selain itu, strain *R. palustris* GCA009 dilaporkan optimum di bawah pencahayaan pada 210 W/m^2 (Wang et al. 2019). Secara amnya, hasil H_2 meningkat dengan kadar maksimum apabila wujudnya keamatan cahaya yang lebih tinggi hingga mencapai titik penepuan cahaya (Basak et al. 2014). Namun demikian, kecekapan penukaran cahaya (LCE) adalah lebih rendah pada keamatan cahaya yang tinggi. Hal ini kerana jumlah tenaga yang dibekalkan sepanjang proses foto-fermentasi adalah lebih tinggi daripada peningkatan hasil H_2 (Uyar et al. 2007). Berdasarkan Uyar et al. (2007), keamatan

cahaya pada 88 W/m^2 menghasilkan LCE tertinggi, manakala keamatan cahaya dalam julat 118 hingga 405 W/m^2 mencatatkan LCE yang lebih rendah daripada 1%.

Bagi melaksanakan proses foto-fermentasi yang ideal, sumber cahaya merupakan satu lagi aspek pencahayaan yang diambil kira (Jadual 4). Pelbagai jenis lampu buatan yang digunakan sebagai sumber cahaya secara meluas dalam kajian terdahulu, contohnya lampu halogen, lampu pijar, tiub pendarfluor, lampu natrium dan diod pemancar cahaya (LED) (Adessi & De Philippis 2014). Sumber cahaya juga boleh dikelaskan mengikut spektrum panjang gelombang yang tertentu. Hal ini kerana sumber cahaya yang berbeza akan mengeluarkan spektrum yang berlainan (Magnin & Deseure 2019; Sun, Lv & Liu 2015). Misalnya, LED putih, merah, hijau dan kuning masing-masing mempunyai panjang gelombang 400 hingga 700 nm, 650 nm, 470 nm, dan 595 nm (Zhou, Zhang & Zhang 2015).

Berdasarkan hasil kajian terdahulu, pencahayaan daripada lampu halogen dapat mencatatkan jumlah H_2 kumulatif yang tertinggi iaitu 251.64 mL dan juga kadar maksimum yang tertinggi pada 2.18 mL/j oleh *R. sphaeroides* RV (Argun & Kargi 2010b). Keputusan dapat diperhatikan melalui spektrum pelepasan berterusan yang luas menerusi lampu halogen dari 300 hingga 1100 nm, dengan suhu warna lebih tinggi boleh dicapai oleh lampu halogen berbanding lampu pijar (Camuffo 2019; de Souza et al. 2019). Manakala gabungan lampu tungsten (cahaya pijar tanpa halogen) dan inframerah (IR) mencatatkan jumlah H_2 kumulatif yang kedua terbaik, dengan H_2 kumulatif sebanyak 126.57 mL iaitu kira-kira 20% lebih tinggi daripada H_2 kumulatif menerusi lampu tungsten sahaja. Perkara ini turut membuktikan sumbangan IR dalam penghasilan H_2 (Argun & Kargi 2010b). Keputusan ini juga selari dengan kajian lepas yang menggunakan air untuk menapis separuh daripada pelepasan inframerah dekat (NIR) dan ia mengakibatkan berlakunya pengurangan lebih daripada 28% kadar purata dan jumlah penghasilan H_2 (Turon, Anxionnaz-Minvielle & Willison 2018).

Dalam kajian lain, larutan kuprum sulfat ($CuSO_4$) telah digunakan sebagai penapis untuk membenarkan pelepasan spektrum cahaya merah dan IR (630 hingga 1035 nm) sahaja. Proses tersebut dilakukan sehingga menghasilkan H_2 dan profil pertumbuhan biojisim yang hampir serupa dengan nilai kawalan (tanpa sebarang penapis) (Uyar et al. 2007). Larutan *Rhodamin B* turut digunakan untuk menyekat bahagian spektrum IR (>760 nm). Perkara ini menyebabkan berlakunya pengurangan penghasilan H_2 sebanyak 39% berbanding jumlah

pada nilai kawalan (370 hingga 1035 nm). Tahap sel bakterioklorofil *a* yang lebih tinggi juga diperhatikan dengan fotobioreaktor kekurangan pencahayaan spektrum IR. Keputusan kajian menunjukkan tekanan tenaga yang ketara telah dialami oleh bakteria dan memaksa proses penjanaan bakterioklorofil *a* yang lebih banyak untuk mengatasi kekurangan tenaga ini

(Uyar et al. 2007). Walau bagaimanapun, H₂ kumulatif terendah melalui *R. sphaeroides* RV dapat dilihat apabila hanya lampu IR yang diuji. Situasi ini menunjukkan beberapa bahagian spektrum cahaya nampak adalah amat diperlukan oleh strain demi penghasilan H₂ yang tinggi (Argun & Kargi 2010b; Turon, Anxionnaz-Minvielle & Willison 2018).

JADUAL 4. Strategi pengoptimuman terhadap rejim pencahayaan dalam proses foto-fermentasi

PNSB	Keamatan cahaya (klux)	Hasil H ₂	Rujukan
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS1	7.5	1339 mL H ₂ /L	Assawamongkholsiri & Reungsang (2015)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> KKU-PS5	6.0	1389 mL H ₂ /L	Laoscharoen & Reungsang (2014)
<i>Rhodobacter capsulatus</i> DSM 1710	34.2 - 34.6	0.32 - 0.56 mol/mol	Androga et al. (2014)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> CIP 60.6	8.5	2226.5 mL/300 mL	Akroum-Amrouche et al. (2011)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> RV	10.0	111.11 mL H ₂	Argun & Kargi (2010a)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> GCA009	25.2	1.15 mol/mol	Wang et al. (2019)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> O.U.001	10.6	0.68 L/L	Uyar et al. (2007)
PNSB	Sumber cahaya	Hasil H ₂	Rujukan
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> RV	Lampu halogen	251.64 mL H ₂	Argun & Kargi (2010b)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> RV	Gabungan lampu tungsten dan IR	126.57 mL H ₂	Argun & Kargi (2010b)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> O.U.001	Spektrum cahaya merah dan IR (630 - 1035 nm)	1.1 L/L	Uyar et al. (2007)
<i>Rhodobacter capsulatus</i> IR3	Kombinasi jenis LED (biru, putih, merah dan NIR)	3.20 L H ₂	Turon, Anxionnaz-Minvielle & Willison (2018)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> PB-Z	LED putih	1291.6 ml/L	Sun, Lv & Liu (2015)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> RV	Lampu tungsten	106.67 mL H ₂	Argun & Kargi (2010b)
<i>Rhodobacter sphaeroides</i> RV	Lampu pendarfluor	103.83 mL H ₂	Argun & Kargi (2010b)
<i>Rhodopseudomonas palustris</i> WP3-5	Gabungan lampu tungsten dan gentian optik	98.0 mL H ₂	Chen et al. (2008)

LED juga digunakan untuk mencapai kecekapan tenaga yang tinggi (Assawamongkholisiri & Reungsang 2015; de Souza et al. 2019; Turon, Anxionnaz-Minvielle & Willison 2018). Di samping itu, LCE tinggi biasanya diperhatikan dengan kehadiran LED (Adessi & De Philippis 2014). Penghasilan biojisim tertinggi oleh *R. palustris* diperhatikan menerusi LED merah yang setanding dengan cahaya pijar dan pertumbuhan optimum dengan cahaya 650 nm (merah) dapat ditunjukkan (Zhou, Zhang & Zhang 2015). Di samping itu, gabungan jenis LED yang berbeza (biru, putih, merah dan NIR) mencapai jumlah penghasilan H_2 yang hampir sama dengan cahaya pijar, biarpun ia mempunyai jumlah keamatan cahaya relatif yang kurang bagi spektrum pada 350 hingga 850 nm (Turon, Anxionnaz-Minvielle & Willison 2018). Kajian lain pula menilai panjang gelombang LED tertentu mengikut penghasilan H_2 oleh *R. palustris* PB-Z. Menerusi kajian tersebut, dibuktikan bahawa LED putih merupakan jenis LED paling produktif (dalam susunan menurun: putih > kuning > hijau > biru > merah) (Sun, Lv & Liu 2015).

Penghasilan yang lebih rendah di bawah pencahayaan lampu merah adalah disebabkan oleh kesan pemerisaian cahaya yang lebih tinggi. Hal ini kerana kandungan pigmen yang lebih tinggi dikesan dalam strain PB-Z yang dikulturkan dengan cahaya merah (Sun, Lv & Liu 2015). Sinaran aktif fotosintetik (PAR), yang mewakili jumlah cahaya yang tersedia untuk proses fotosintesis berkemungkinan digunakan dalam parameter yang lebih menunjukkan cahaya insiden (Magnin & Deseure 2019). Magnin dan Deseure (2019) juga menyatakan bahawa meskipun lampu natrium (Na-lampu) menghasilkan nilai PAR sebanyak 30% lebih tinggi daripada LED putih, tetapi hampir satu kali ganda lebih rendah penghasilan H_2 telah dicatatkan berbanding LED putih. Kajian ini turut menunjukkan kecekapan spektrum hijau yang lebih tinggi daripada spektrum putih, disebabkan oleh jumlah pelepasan tenaga cahaya hijau yang lebih rendah.

Seterusnya, kajian terhadap penggunaan cahaya semula jadi terutamanya cahaya solar juga dilaksanakan dalam usaha untuk menjimatkan kos pemprosesan (Adessi & De Philippis 2014). Sebanyak 74.64 mL H_2 kumulatif telah dihasilkan dengan menggunakan cahaya matahari, iaitu kira-kira 30% lebih rendah daripada H_2 kumulatif yang dihasilkan menggunakan lampu tungsten dan pendarfluor (Argun & Kargi 2010b). Situasi turun naik keamatan cahaya ini boleh memberi kesan negatif terhadap proses foto-fermentasi, seiring dengan kecenderungan berlakunya fotorencatan lebih-lebih lagi

pada waktu tengah hari (Adessi & De Philippis 2014). Tambahan pula, hanya 65.8% daripada nilai PAR untuk bakteria ungu diwakili oleh spektrum solar (Adessi & De Philippis 2014). Di samping itu, kesan sumber cahaya yang berbeza dan spektrum panjang gelombang yang tertentu boleh dikaitkan dengan spektrum penyerapan cahaya unik di PNSB dan ditentukan oleh kandungan bakterioklorofil *a* dan karotenoid (Uyar et al. 2007).

Pengoptimuman pencahayaan juga merangkumi usaha untuk meningkatkan pengagihan dan penembusan cahaya (Basak & Das 2009). Selain pencahayaan lampu halogen dan tungsten, Chen et al. (2008) dalam kajiannya menggunakan gentian optik yang membolehkan pencahayaan dalaman untuk meningkatkan pengagihan cahaya dalam bekas foto-fermentasi. Hasil dan kadar penghasilan H_2 masing-masing ditingkatkan sebanyak 51.3 dan 110% berbanding proses foto-fermentasi dengan kehadiran pencahayaan luaran sahaja, walaupun ia mengalami penurunan LCE. Dalam kajian lain, gentian optik digunakan untuk membolehkan pencahayaan dalaman daripada solar terjadi. Keadaan ini dinamakan sebagai gentian optik yang teruja tenaga solar (SEEOF) yang digabungkan dengan lampu tungsten untuk pencahayaan pada waktu malam (Chen et al. 2008). Hasilnya, lebih daripada dua kali ganda H_2 dihasilkan dengan kadar keseluruhan sebanyak tiga kali ganda menggunakan gentian optik ini berbanding hanya kehadiran cahaya pijar pada waktu siang dan malam.

KESIMPULAN

H_2 merupakan bahan bakar lestari yang bersih dan berpotensi untuk menggantikan bahan bakar fosil yang terhad pada masa akan datang. Foto-fermentasi ialah salah satu kaedah yang dikaji secara meluas untuk menghasilkan bio- H_2 oleh bakteria fotosintesis seperti PNSB. Walau bagaimanapun, penghasilan yang perlahan dan LCE yang rendah sepanjang proses tersebut merupakan antara cabaran yang perlu dihadapi dalam aplikasi skala yang lebih besar. Justeru, ulasan ini membincangkan kaedah tersedia dalam mempertingkatkan prestasi foto-fermentasi, iaitu pengoptimuman dan pengubahsuaian pada HPM, faktor abiotik dan rejim pencahayaan untuk menambah baik pengedaran cahaya serta penghasilan bio- H_2 . Namun begitu, perbandingan secara langsung antara teknik ini boleh menjadi sukar disebabkan oleh kerumitan tindak balas biokimia dan tindak balas dalam mikroorganisma. Oleh itu, penyelidik perlulah memperhalusi pelbagai

strategi sedia ada secara sistematik bagi memenuhi keperluan sistem individu untuk pengoptimuman dalam kajian pada masa depan. Di samping itu, pendekatan gabungan yang mengintegrasikan strategi pengoptimuman individu yang berbeza mungkin dapat mendatangkan peningkatan yang sinergistik terhadap produktiviti dan hasil biohidrogen foto-fermentasi oleh PNSB dalam aplikasi fermentasi yang berskala besar ataupun skala industri.

PENGHARGAAN

Penulis ingin merakamkan penghargaan kepada Universiti Kebangsaan Malaysia-Yayasan Sime Darby (UKM-YSD) *Chair for Sustainability*. Penulis juga ingin mengucapkan ribuan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan Malaysia dan Universiti Kebangsaan Malaysia atas sokongan tajaan projek ini melalui geran Fundamental Research Grant Scheme (FRGS/1/2019/TK10/UKM/02/2) dan Dana Impak Perdana (DIP-2019-008).

RUJUKAN

- Abdul, P.M., Md. Jahim, J., Harun, S., Markom, M., Hassan, O., Mohammad, A.W. & Asis, A.J. 2013. Biohydrogen production from pentose-rich oil palm empty fruit bunch molasses: A first trial. *International Journal of Hydrogen Energy* 38(35): 15693-15699.
- Adessi, A. & De Philippis, R. 2014. Photobioreactor design and illumination systems for H₂ production with anoxygenic photosynthetic bacteria: A review. *International Journal of Hydrogen Energy* 39(7): 3127-3141.
- Akroum-Amrouche, D., Abdi, N., Lounici, H. & Mameri, N. 2013. Biohydrogen production by dark and photo-fermentation processes. *Proceedings of 2013 International Renewable and Sustainable Energy Conference*. pp. 499-503.
- Akroum-Amrouche, D., Abdi, N., Lounici, H. & Mameri, N. 2011. Effect of physico-chemical parameters on biohydrogen production and growth characteristics by batch culture of *Rhodobacter sphaeroides* CIP 60.6. *Applied Energy* 88(6): 2130-2135.
- Androga, D.D., Sevinç, P., Koku, H., Yücel, M., Gündüz, U., Eroğlu, I. & Eroglu, I. 2014. Optimization of temperature and light intensity for improved photofermentative hydrogen production using *Rhodobacter capsulatus* DSM 1710. *International Journal of Hydrogen Energy* 39(6): 2472-2480.
- Anwar, M., Lou, S., Chen, L., Li, H. & Hu, Z. 2019. Recent advancement and strategy on bio-hydrogen production from photosynthetic microalgae. *Bioresource Technology* 292: 121972.
- Argun, H. & Kargi, F. 2010a. Effects of light source, intensity and lighting regime on bio-hydrogen production from ground wheat starch by combined dark and photo-fermentations. *International Journal of Hydrogen Energy* 35(4): 1604-1612.
- Argun, H. & Kargi, F. 2010b. Photo-fermentative hydrogen gas production from dark fermentation effluent of ground wheat solution: Effects of light source and light intensity. *International Journal of Hydrogen Energy* 35(4): 1595-1603.
- Arimi, M.M., Knodel, J., Kiprof, A., Namango, S.S., Zhang, Y. & Geißen, S.U. 2015. Strategies for improvement of biohydrogen production from organic-rich wastewater: A review. *Biomass and Bioenergy* 75: 101-118.
- Arisht, S.N., Abdul, P.M., Liu, C.M., Lin, S.K., Maaroff, R.M., Wu, S.Y. & Jahim, J.M. 2019. Biototoxicity assessment and lignocellulosic structural changes of phosphoric acid pre-treated young coconut husk hydrolysate for biohydrogen production. *International Journal of Hydrogen Energy* 44(12): 5830-5843.
- Assawamongkholsiri, T. & Reungsang, A. 2015. Photo-fermentational hydrogen production of *Rhodobacter* sp. KKU-PS1 isolated from an UASB reactor. *Electronic Journal of Biotechnology* 18(3): 221-230.
- Assawamongkholsiri, T., Reungsang, A., Plangkang, P. & Sittijunda, S. 2018. Repeated batch fermentation for photo-hydrogen and lipid production from wastewater of a sugar manufacturing plant. *International Journal of Hydrogen Energy* 43(7): 3605-3617.
- Assawamongkholsiri, T., Plangkang, P. & Reungsang, A. 2016. Photofermentation and lipid accumulation by *Rhodobacter* sp. KKU-PS1 using malic acid as a substrate. *International Journal of Hydrogen Energy* 41(15): 6259-6270.
- Azizi, M.A.H., Wan Isahak, W.N.R., Dzakaria, N. & Yarmo, M.A. 2019. Hydrogen production from catalytic formic acid decomposition over Zn based catalysts under room temperature. *Jurnal Kejuruteraan* 31(1): 155-160.
- Basak, N. & Das, D. 2009. Photofermentative hydrogen production using purple non-sulfur bacteria *Rhodobacter sphaeroides* O.U.001 in an annular photobioreactor: A case study. *Biomass and Bioenergy* 33(6): 911-919.
- Basak, N., Jana, A.K., Das, D. & Saikia, D. 2014. Photofermentative molecular biohydrogen production by purple-non-sulfur (PNS) bacteria in various modes: The present progress and future perspective. *International Journal of Hydrogen Energy* 39(13): 6853-6871.
- Camuffo, D. 2019. Radiometric aspects of solar radiation, blackbody, and lamp radiation. Dlm. *Microclimate for Cultural Heritage: Measurement, Risk Assessment, Conservation, Restoration, and Maintenance of Indoor and Outdoor Monuments*. 3rd ed. hlm. 237-272.
- Chen, C.Y., Saratale, G.D., Lee, C.M., Chen, P.C. & Chang, J.S. 2008. Phototrophic hydrogen production in photobioreactors coupled with solar-energy-excited optical fibers. *International Journal of Hydrogen Energy* 33(23): 6886-6895.

- Chen, X., Lv, Y., Liu, Y., Ren, R. & Zhao, J. 2017. The hydrogen production characteristics of mixed photoheterotrophic culture. *International Journal of Hydrogen Energy* 42(8): 4840-4847.
- de Souza, D.F., da Silva, P.P.F., Fontenele, L.F.A., Barbosa, G.D. & de Oliveira Jesus, M. 2019. Efficiency, quality, and environmental impacts: A comparative study of residential artificial lighting. *Energy Reports* 5: 409-424.
- Eroğlu, İ., Aslan, K., Gündüz, U., Yücel, M. & Türker, L. 1999. Substrate consumption rates for hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* in a column photobioreactor. *Progress in Industrial Microbiology* 35(C): 103-113.
- Ghosh, D., Sobro, I.F. & Hallenbeck, P.C. 2012. Optimization of the hydrogen yield from single-stage photofermentation of glucose by *Rhodobacter capsulatus* JP91 using response surface methodology. *Bioresource Technology* 123: 199-206.
- Hallenbeck, P.C. & Liu, Y. 2016. Recent advances in hydrogen production by photosynthetic bacteria. *International Journal of Hydrogen Energy* 41(7): 4446-4454.
- Han, H., Jia, Q., Liu, B., Yang, H. & Shen, J. 2013. Fermentative hydrogen production from acetate using *Rhodobacter sphaeroides* RV. *International Journal of Hydrogen Energy* 38(25): 10773-10778.
- Hanipa, M.A.F., Abdul, P.M., Jahim, J.M., Takriff, M.S., Reungsang, A. & Wu, S.Y. 2020. Biotechnological approach to generate green biohydrogen through the utilization of succinate-rich fermentation wastewater. *International Journal of Hydrogen Energy* 45(42): 22246-22259.
- Hay, J.X.W., Wu, T.Y., Juan, J.C. & Jahim, J.M. 2013. Biohydrogen production through photo fermentation or dark fermentation using waste as a substrate: Overview, economics, and future prospects of hydrogen usage. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 7(3): 334-352.
- Hillmer, P. & Gest, H. 1977. H₂ metabolism in the photosynthetic bacterium *Rhodospseudomonas capsulata*: H₂ production by growing cultures. *Journal of Bacteriology* 129(2): 724-731.
- Hu, C., Choy, S.Y. & Giannis, A. 2018. Evaluation of lighting systems, carbon sources, and bacteria cultures on photofermentative hydrogen production. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 185(1): 257-269.
- Hu, J., Jing, Y., Zhang, Q., Guo, J. & Lee, D.J. 2017. Mesophilic and thermophilic photo-hydrogen production from micro-grounded, enzyme-hydrolyzed maize straws. *International Journal of Hydrogen Energy* 42(45): 27618-27622.
- Jafary, T., Wan Daud, W.R., Ghasemi, M., Abu Bakar, M.H., Sedighi, M., Kim, B.H., Carmona-Martínez, A.A., Jahim, J.M. & Ismail, M. 2019. Clean hydrogen production in a full biological microbial electrolysis cell. *International Journal of Hydrogen Energy* 44(58): 30524-30531.
- Jalil, N.K.A., Asli, U.A., Khamis, A.K., Hashim, H., Kamaruddin, J., Hassim, M.H. & Choopavang, S.B. 2019. Kinetic analysis of biohydrogen formation using immobilized hydrogen-producing bacteria on activated carbon sponge from pineapple residues. *Jurnal Kejuruteraan SI* 2(1): 131-135.
- Jiang, D., Fang, Z., Chin, S.X., Tian, X.F. & Su, T.C. 2016. Biohydrogen production from hydrolysates of selected tropical biomass wastes with *Clostridium butyricum*. *Scientific Reports* 6(May): 1-11.
- Jiang, D., Ge, X., Zhang, T., Liu, H. & Zhang, Q. 2016. Photo-fermentative hydrogen production from enzymatic hydrolysate of corn stalk pith with a photosynthetic consortium. *International Journal of Hydrogen Energy* 41(38): 16778-16785.
- Kapdan, I.K., Kargi, F., Oztekin, R. & Argun, H. 2009. Biohydrogen production from acid hydrolyzed wheat starch by photo-fermentation using different *Rhodobacter* sp. *International Journal of Hydrogen Energy* 34(5): 2201-2207.
- Koku, H., Eroğlu, I., Gündüz, U., Yücel, M., Türker, L., Eroğlu, İ., Gündüz, U., Yücel, M., & Türker, L. 2002. Aspects of the metabolism of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides*. *International Journal of Hydrogen Energy* 27(11-12): 1315-1329.
- Kumar, G., Mudhoo, A., Sivagurunathan, P., Nagarajan, D., Ghimire, A., Lay, C.H., Lin, C.Y., Lee, D.J. & Chang, J.S. 2016. Recent insights into the cell immobilization technology applied for dark fermentative hydrogen production. *Bioresource Technology* 219: 725-737.
- Laocharoen, S. & Reungsang, A. 2014. Isolation, characterization and optimization of photo-hydrogen production conditions by newly isolated *Rhodobacter sphaeroides* KKU-PS5. *International Journal of Hydrogen Energy* 39(21): 10870-10882.
- Laurinavichene, T., Tekucheve, D., Laurinavichius, K. & Tsygankov, A. 2018. Utilization of distillery wastewater for hydrogen production in one-stage and two-stage processes involving photofermentation. *Enzyme and Microbial Technology* 110: 1-7.
- Li, X., Wang, Y., Zhang, S., Chu, J., Zhang, M., Huang, M. & Zhuang, Y. 2011. Effects of light/dark cycle, mixing pattern and partial pressure of H₂ on biohydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* ZX-5. *Bioresource Technology* 102(2): 1142-1148.
- Liu, B., Jin, Y.R., Cui, Q.F., Xie, G.J., Wu, Y.N. & Ren, N.Q. 2015. Photo-fermentation hydrogen production by *Rhodospseudomonas* sp. nov. strain A7 isolated from the sludge in a bioreactor. *International Journal of Hydrogen Energy* 40(28): 8661-8668.
- Łukajtis, R., Hołowacz, I., Kucharska, K., Glinka, M., Rybarczyk, P., Przyjazny, A. & Kamiński, M. 2018. Hydrogen production from biomass using dark fermentation. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 91: 665-694.
- Maaroff, R.M., Jahim, J.M., Azahar, A.M., Abdul, P.M., Masdar, M.S., Nordin, D. & Abd Nasir, M.A. 2019. Biohydrogen production from palm oil mill effluent (POME) by two stage anaerobic sequencing batch reactor (ASBR) system for better utilization of carbon sources in POME. *International Journal of Hydrogen Energy* 44(6): 3395-3406.

- Magnin, J.P. & Deseure, J. 2019. Hydrogen generation in a pressurized photobioreactor: Unexpected enhancement of biohydrogen production by the phototrophic bacterium *Rhodobacter capsulatus*. *Applied Energy* 239(October 2018): 635-643.
- Mahmod, S.S., Jahim, J.M. & Abdul, P.M. 2017. Pretreatment conditions of palm oil mill effluent (POME) for thermophilic biohydrogen production by mixed culture. *International Journal of Hydrogen Energy* 42(45): 27512-27522.
- Mishra, P., Singh, L., Ab Wahid, Z., Krishnan, S., Rana, S., Amirul Islam, M. & Sakinah, M. 2018. Photohydrogen production from dark-fermented palm oil mill effluent (DPOME) and statistical optimization: Renewable substrate for hydrogen. *Journal of Cleaner Production* 199: 11-17.
- Nath, K. & Das, D. 2009. Effect of light intensity and initial pH during hydrogen production by an integrated dark and photofermentation process. *International Journal of Hydrogen Energy* 34(17): 7497-7501.
- Pandey, A., Srivastava, S., Rai, P. & Duke, M. 2019. Cheese whey to biohydrogen and useful organic acids: A non-pathogenic microbial treatment by *L. acidophilus*. *Scientific Reports* 9(1): 1-9.
- Pandey, A., Srivastava, N. & Sinha, P. 2012. Optimization of hydrogen production by *Rhodobacter sphaeroides* NMBL-01. *Biomass and Bioenergy* 37: 251-256.
- Reungsang, A., Zhong, N., Yang, Y., Sittijunda, S., Xia, A. & Liao, Q. 2018. 7 - Hydrogen from photo fermentation. *Green Energy and Technology*. Singapore: Springer. hlm. 221-317.
- Sivagurunathan, P., Kumar, G., Bakonyi, P., Kim, S.H., Kobayashi, T., Xu, K.Q., Lakner, G., Tóth, G., Nemestóthy, N. & Bélafi-Bakó, K. 2016. A critical review on issues and overcoming strategies for the enhancement of dark fermentative hydrogen production in continuous systems. *International Journal of Hydrogen Energy* 41(6): 3820-3836.
- Subudhi, S., Mogal, S.K., Kumar, N.R., Nayak, T., Lal, B., Velankar, H.R., Kumar, T.R., Rao, P.V.C., Choudary, N.V., Shah, G. & Gandham, S. 2016. Photo fermentative hydrogen production by a new strain; *Rhodobacter sphaeroides* CNT 2A, isolated from pond sediment. *International Journal of Hydrogen Energy* 41(32): 13979-13985.
- Sun, M., Lv, Y. & Liu, Y. 2015. A new hydrogen-producing strain and its characterization of hydrogen production. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 177(8): 1676-1689.
- Tao, Y., He, Y., Wu, Y., Liu, F., Li, X., Zong, W. & Zhou, Z. 2008. Characteristics of a new photosynthetic bacterial strain for hydrogen production and its application in wastewater treatment. *International Journal of Hydrogen Energy* 33(3): 963-973.
- Tarabas, O.V., Hnatush, S.O. & Moroz, O.M. 2019. The usage of nitrogen compounds by purple non-sulfur bacteria of the *Rhodospseudomonas* genus. *Regulatory Mechanisms in Biosystems* 10(1): 83-86.
- Turon, V., Anxionnaz-Minvielle, Z. & Willison, J.C. 2018. Replacing incandescent lamps with an LED panel for hydrogen production by photofermentation: Visible and NIR wavelength requirements. *International Journal of Hydrogen Energy* 43(16): 7784-7794.
- Uyar, B., Kars, G., Yücel, M., Gündüz, U. & Eroğlu, I. 2012. Hydrogen production via photofermentation. Dlm. *State of the Art and Progress in Production of Biohydrogen*. Bentham Science. hlm. 54-77.
- Uyar, B., Eroglu, I., Yücel, M., Gündüz, U. & Türker, L. 2007. Effect of light intensity, wavelength and illumination protocol on hydrogen production in photobioreactors. *International Journal of Hydrogen Energy* 32(18): 4670-4677.
- Wang, Y., Tahir, N., Cao, W., Zhang, Q. & Lee, D.J. 2019. Grid columnar flat panel photobioreactor with immobilized photosynthetic bacteria for continuous photofermentative hydrogen production. *Bioresource Technology* 291: 121806.
- Zhang, Q. & Zhang, Z. 2018. Chapter Four - Biological hydrogen production from renewable resources by photofermentation. Dlm. *Advances in Bioenergy*, 1st ed., Elsevier Inc. 3: 137-160.
- Zhou, Q., Zhang, P. & Zhang, G. 2015. Biomass and pigments production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: Effects of light sources. *Bioresource Technology* 179: 505-509.
- Zhu, Z., Shi, J., Zhou, Z., Hu, F. & Bao, J. 2010. Photofermentation of *Rhodobacter sphaeroides* for hydrogen production using lignocellulose-derived organic acids. *Process Biochemistry* 45(12): 1894-1898.

*Pengarang untuk surat-menyurat; email: peer@ukm.edu.my