



Pengaruh Konsentrasi Polifenol pada Produksi Asam Laktat dari Substrat Menggunakan *Rhizopus oryzae*

Maulana Gilar Nugraha*, Siti Syamsiah, Agus Prasetya
Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada
Jalan Grafika No. 2, Kampus UGM, 55281 Yogyakarta

*Alamat korespondensi: mgilar8@yahoo.com

ABSTRACT

Polyphenol is antioxidant compound naturally present in plants e.g in cacao shell (*Theobroma cacao L.*). The cacao shell has high cellulose content (30-50%), and therefore it is potential to be converted into various types of products. Cellulose could be hydrolyzed to produce glucose, and glucose could be fermented to become lactic acid. However, polyphenol presence in the cacao shell is suspected to be inhibitory to fermentation process. This research aimed to figure out the polyphenol effect in lactic acid fermentation with glucose as substrate by the fungus *Rhizopus oryzae*.

Polyphenol concentrations in the fermentation broth were varied with value of 0, 10, 15, and 20 g/L. Along the course of the experiment, lactic acid concentration was measured by means of gravimetric and conductometric method. Fungus growth was measured through dry mass method while consumption of glucose was observed by glucose determination with Nelson-Samogyi method. The results showed that polyphenol presence in fermentation system would decrease lactic acid production from 40.55 g/L (system without polyphenol) to 18.24 g/L (system with 20 g/L polyphenol). Microbe growth inhibition also observed from 3.68 g/L (system without polyphenol) to 0.51 g/L (system with 20 g/L polyphenol). However, polyphenol presence did not affect the total glucose consumption. Final glucose concentrations in all system were about 10.94 to 19.28 g/L. Some possible factors for this phenomenon were glucose conversion to another product and glucose utilization for cell maintenance. This research also found that the best kinetic model to represent the fermentation system was uncompetitive inhibition model.

Keywords: fermentation kinetics, inhibitor, polyphenol, cacao

ABSTRAK

Kulit buah coklat (*Theobroma cacao L.*) merupakan salah satu limbah perkebunan dengan kandungan selulosa yang relatif tinggi (30-50%) yang berpotensi sebagai bahan baku berbagai produk. Selain itu, kulit buah coklat juga mengandung polifenol sebagai antioksidan dalam jumlah yang relative besar. Selulosa dapat dihidrolisis menjadi glukosa dan hasil hidrolisis tersebut dapat difermentasi menjadi asam laktat. Namun keberadaan polifenol dalam kulit kakao berpotensi menghambat proses fermentasi selulosa. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh polifenol terhadap fermentasi asam laktat dengan bahan baku glukosa menggunakan *Rhizopus oryzae*.

Variasi konsentrasi polifenol yang digunakan adalah 0, 10, 15, dan 20 g/L dalam cairan fermentasi. Sepanjang penelitian konsentrasi asam laktat dianalisis dengan metode gravimetri dan konduktometri.

Konsentrasi mikroba diukur dengan menggunakan metode berat kering sedangkan pengukuran konsentrasi glukosa menggunakan metode Nelson-Samogyi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi polifenol dapat menurunkan produksi asam laktat dari 40,55 g/L (sistem tanpa polifenol) menjadi 18,24 g/L (sistem dengan 20 g/L polifenol). Pertumbuhan mikroba pun mengalami penurunan dari 3,68 g/L (sistem tanpa polifenol) menjadi 0,51 g/L (sistem dengan 20 g/L polifenol). Walaupun demikian, konsumsi glukosa tidak terlalu dipengaruhi oleh penambahan polifenol. Nilai konsentrasi akhir glukosa sistem pada berbagai variasi polifenol berkisar 10,94 s/d 19,28 g/L. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh terkonversinya glukosa menjadi produk samping lain dan alokasi untuk *maintenance* sel. Penelitian ini menyimpulkan bahwa model kinetika yang dapat merepresentasikan sistem ini dengan baik adalah model *uncompetitive inhibition*.

Kata kunci: kinetika fermentasi, inhibitor, polifenol, kakao

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan penghasil kakao (*Theobroma cacao L.*) terbesar ketiga di dunia pada tahun 2013 dengan jumlah produksi 723.000 ton/tahun. Pemanfaatan buah/daging kakao sejauh ini masih jauh lebih besar dibandingkan dengan pemanfaatan kulit kakao, padahal $\pm 70\%$ massa total kakao kering terletak pada kulitnya.

Kulit kakao memiliki kandungan selulosa 30-50% dari total berat kering kulit kakao. Bahan alam yang mengandung selulosa dapat di konversi menjadi asam laktat dengan bantuan mikroba melalui proses fermentasi. Adanya polifenol dapat menjadi penghambat (inhibitor) dalam proses konversi kulit kakao, khususnya jika proses dilakukan dengan menggunakan mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh kadar polifenol terhadap proses fermentasi asam laktat dengan bahan baku glukosa menggunakan jamur *Rhizopus oryzae*. Glukosa murni digunakan untuk mendapatkan data yang lebih akurat mengenai pengaruh polifenol dalam sistem tanpa adanya bahan pengotor lain yang kemungkinan ada dalam hasil hidrolisis kulit kakao.

Jenis mikroorganisme, sumber karbon, dan kondisi operasi (pH, suhu, aerasi) merupakan beberapa faktor yang penting dalam proses fermentasi asam laktat. Jenis mikroba penghasil asam laktat dapat digolongkan sebagai *homofermentative* dan *heterofermentative lactic acid microbe* tergantung dari jenis produk yang dihasilkan. *Rhizopus oryzae* yang merupakan *heterofermentative lactic acid microbe*,

digunakan sebagai mikroba pada penelitian ini karena ketahanannya terhadap sistem dengan konsentrasi substrat yang cukup tinggi (<200 g/L).

Sumber karbon yang digunakan dalam penelitian ini adalah glukosa murni dengan beberapa nutrient yang mengacu pada penelitian Pramudyanti (2004). Suhu eksperimen yang digunakan adalah suhu lingkungan (25°C) dan pH dipertahankan di atas 6 dengan penambahan CaCO₃. Aerasi atau sirkulasi udara ke dalam sistem dibantu dengan *shaker* untuk memastikan bahwa *Rhizopus oryzae* mendapatkan suplai oksigen secara kontinyu.

Evaluasi kinetika reaksi dilakukan dengan menggunakan model matematis untuk menemukan konstanta dan persamaan kinetika reaksi yang memberikan hasil paling mirip dengan data penelitian. Persamaan utama yang dipakai terdiri dari tiga, yaitu Pers. (1), Pers. (2), dan Pers. (3).

a) Kecepatan konsumsi glukosa (Khanna dan Srivastava, 2005) dinyatakan dalam Pers. (1) yang mengakomodasi pengaruh konsentrasi jamur (X) terhadap laju konversi glukosa (S) sebagai substrat.

$$-\frac{dS}{dt} = k_3 \frac{dX}{dt} + k_4 \cdot X \quad (1)$$

b) Kecepatan produksi asam laktat menggunakan persamaan *mixed associated* Luedeking-Piret (Shuler dan Kargi, 1992) yang dinyatakan dalam Pers. (2).

$$\frac{dP}{dt} = k_1 \frac{dX}{dt} + k_2 \cdot X \quad (2)$$

c) Kecepatan pertumbuhan jamur dianggap mengikuti persamaan Monod (Pers. 4) yang kemungkinan perlu dimodifikasi (Pers. 5, Pers 6, dan Pers. 7) dengan keberadaan inhibitor dalam sistem (Shuler dan Kargi, 1992).

$$\frac{dX}{dt} = \mu_i \cdot X \quad (3)$$

Dengan μ kemungkinan mengikuti persamaan Monod (Pers. 4). Modifikasi Monod dengan asumsi competitive inhibition (Pers. 5), modifikasi Monod dengan asumsi non-competitive inhibition (Pers. 6), atau modifikasi Monod dengan asumsi uncompetitive inhibition (Pers. 7). Dalam penelitian ini ditentukan modifikasi yang paling sesuai dengan data eksperimen.

$$\mu_1 = \frac{\mu_m \cdot S_1}{K_s + S_1} \quad (4)$$

$$\mu_2 = \frac{\mu_m \cdot S}{K_s \cdot \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) + S} \quad (5)$$

$$\mu_3 = \frac{\mu_m}{\left(1 + \frac{K_s}{S}\right) \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)} \quad (6)$$

$$\mu_4 = \frac{\mu_m \cdot S}{\left(\frac{K_s}{1 + \frac{I}{K_i}} + S\right) \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)} \quad (7)$$

2. Metode Penelitian

2.1. Bahan Penelitian

Polifenol yang digunakan adalah produk CV. Amut Indospace yang diambil dari ekstrak teh dengan komposisi utama adalah katekin (80%). Karakter inhibitor dari katekin dianggap cukup mendekati karakter polifenol dari kulit kakao. Sumber karbon berasal dari glukosa murni dengan tambahan beberapa nutrient seperti KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. CaCO_3 ditambahkan kedalam sistem untuk menjaga pH lebih dari 6. Seluruh bahan tersebut adalah *p.a grade* produk *Merck*. *Rhizopus oryzae* yang digunakan diperoleh dari koleksi kultur Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM, ditumbuhkan dalam medium PDA (*Potato, Dextrose, Agar*) dan diinokulasi selama 7 hari sebelum diinokulasikan dalam larutan glukosa.

2.2. Alat Penelitian

Alat utama yang digunakan untuk proses fermentasi asam laktat adalah labu Erlenmeyer dengan sistem aerasi menggunakan *shaker*. Proses penyiapan biakan dilakukan dalam *Laminer Flow Cabinet* untuk menjaga kesterilan sistem. Analisis polifenol dan glukosa menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.

2.3. Pelaksanaan Penelitian

2.3.1. Persiapan Substrat

Variasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi polifenol yaitu 0, 10, 15, dan 20 g/L. Komposisi substrat mengacu pada penelitian Pramudyanti (2004) yang terdiri atas 6 g glukosa, 0,0075 g KH_2PO_4 , 0,015 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,0125 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,002 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,1 g CaCO_3 yang akan dilarutkan dengan 50 mL aquadest dalam labu Erlenmeyer. Sampel dianalisis dalam 5 waktu berbeda (24, 36, 48, 60, dan 72 jam), sehingga didapatkan lima Erlenmeyer untuk setiap variasi. Setelah itu semua larutan disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 20 menit.

2.3.2. Fermentasi Asam Laktat

Suspensi *Rhizopus oryzae* sebanyak 1 mL ditambahkan ke dalam masing-masing Erlenmeyer yang telah disterilisasikan. Semua larutan ditempatkan di *shaker* untuk memastikan aliran udara berlangsung dengan baik ke dalam sistem. Setiap variasi akan dianalisis konsentrasi *Rhizopus sp*, glukosa, asam laktat dan polifenol pada waktu ke 24, 36, 48, 60, dan 72 jam penelitian.

Parameter yang dianalisis dalam penelitian ini adalah konsentrasi mikroba, asam laktat dan glukosa. Pengukuran mikroba yang dilakukan menggunakan metode berat kering dengan prosedur yang sama seperti yang dilakukan oleh Jin dkk. (2005). Pengukuran glukosa dilakukan mengikuti metode Nelson-Samogyi yang menggunakan UV-Vis Spektrofotometer sebagai instrumen untuk menganalisis kandungan glukosa.

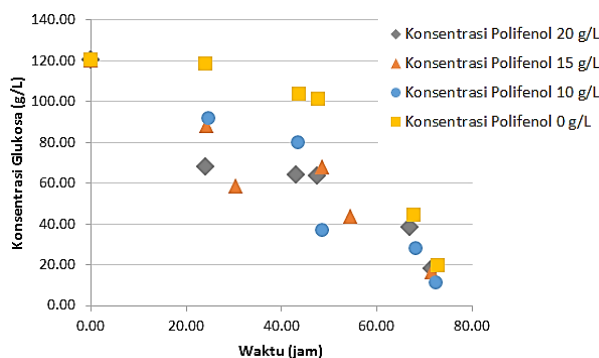
Pengukuran asam laktat menggunakan metode gravimetri. Metode ini lebih dipilih karena terdapat kemungkinan sebagian asam

laktat yang bereaksi dengan CaCO_3 menjadi kalsium laktat. Menggunakan metode gravimetri H_2SO_4 dapat merubah kalsium laktat menjadi asam laktat kembali. Untuk mengambil asam laktat maka ditambahkan dietil eter untuk memisahkan antara asam laktat dengan asam sulfat. Asam laktat yang terlarut dalam dietil eter dapat dipisahkan dengan penguapan pada suhu 60°C . Dietil eter menguap pada suhu tersebut sehingga hasil akhir yang didapatkan adalah hanya asam laktat.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Pengaruh Konsentrasi Polifenol terhadap Konsumsi Glukosa, Pertumbuhan Mikroba dan Produksi Asam Laktat

Pengaruh polifenol terhadap konsumsi glukosa sepanjang penelitian ditunjukkan pada Gambar 1. Data penelitian memperlihatkan bahwa pada awal fermentasi, konsumsi glukosa paling besar terjadi pada sistem dengan konsentrasi polifenol sebesar 20 g/L. Sedangkan untuk variasi tanpa polifenol, kecepatan konsumsi glukosa diawal penelitian masih sangat lambat dan mulai meningkat pada waktu setelah 24 jam. Namun secara umum untuk semua variasi konsentrasi polifenol terlihat bahwa pada akhir waktu fermentasi (setelah 70 jam) laju konsumsi glukosa masih cukup tinggi. Hal ini kemungkinan besar disebabkan karena mikroba masih dalam fase pertumbuhan.

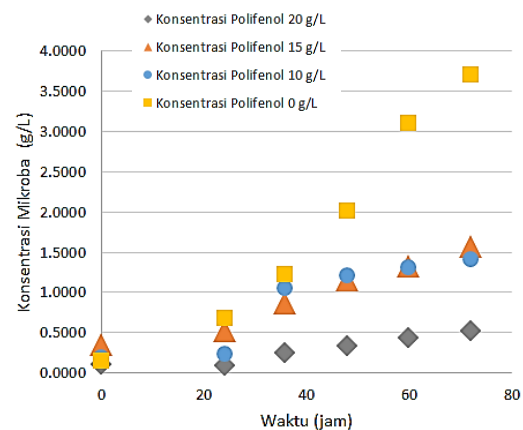


Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi Polifenol Terhadap Konsumsi Glukosa pada Fermentasi Asam Laktat Menggunakan *Rhizopus oryzae*

Konsentrasi glukosa akhir adalah 19,28 g/L pada sistem dengan tanpa polifenol, 10,94 g/L

pada sistem dengan konsentrasi polifenol 10 g/L, 16,44 g/L pada sistem dengan konsentrasi polifenol 15 g/L dan 18,27 g/L pada sistem konsentrasi polifenol 20 g/L. Hasil akhir dari proses konsumsi glukosa tidak terlalu berbeda antar variasi konsentrasi polifenol. Ini bisa menunjukkan bahwa konsumsi glukosa tidak terlalu dipengaruhi oleh keberadaan polifenol pada *range* konsentrasi 0-20 g/L.

Data pengaruh polifenol terhadap pertumbuhan mikroba ditunjukkan pada Gambar 2. Data hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan mikroba paling besar terjadi pada sistem dengan tidak ada polifenol di dalamnya, dimana konsentrasi akhir pada variasi tersebut mencapai angka 3,68 g/L. Sedangkan pertumbuhan paling lambat terjadi pada sistem dengan variasi polifenol tertinggi yaitu 20 g/L dengan konsentrasi akhir mikroba 0,51 g/L. Sistem dengan konsentrasi polifenol 10 dan 15 g/L menunjukkan hasil yang tidak terlalu berbeda. Kecepatan pertumbuhan mikroba pada kedua sistem tersebut relatif sama dengan hasil akhir konsentrasi 1,41 g/L dan 1,57 g/L.

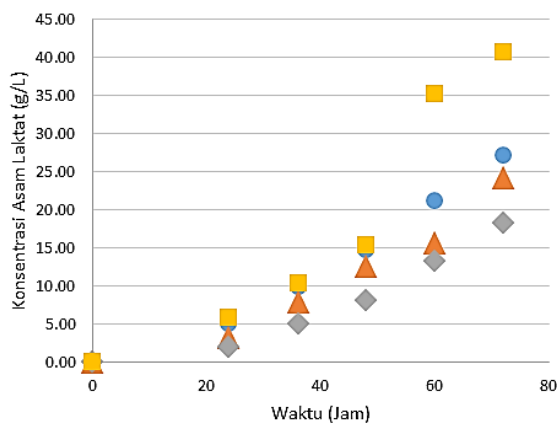


Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Polifenol Terhadap Pertumbuhan Mikroba pada Fermentasi Asam Laktat Menggunakan *Rhizopus oryzae*

Berdasarkan data-data hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa keberadaan polifenol sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroba. Hal ini ditunjukkan dengan pengurangan kecepatan pertumbuhan mikroba seiring dengan meningkatnya konsentrasi polifenol. Efek polifenol akan menurunkan pertumbuhan mikroba secara drastis pada konsentrasi polifenol

20 g/L, hingga mencapai 88,75% dari kecepatan normal tanpa polifenol pada jam ke 72. Sedangkan untuk sistem dengan konsentrasi polifenol 10 dan 15 g/L penurunan kecepatan pertumbuhan mikroba berkisar 65,40%. Menurunnya pertumbuhan mikroba akibat terdapatnya inhibitor dalam sistem sesuai dengan teori yang dikemukakan oleh Shuler dan Kargi (1992).

Pengaruh polifenol terhadap konsentrasi asam laktat ditunjukkan pada Gambar 3. Data memperlihatkan bahwa sistem tanpa polifenol menghasilkan produksi asam laktat tertinggi disusul dengan sistem dengan konsentrasi polifenol 10, 15, dan 20 g/L. Perbedaan nilai konsentrasi asam laktat akhir yang cukup mencolok terlihat antara sistem tanpa polifenol dengan sistem dengan konsentrasi polifenol 20 g/L. Terjadi penurunan produksi asam laktat kurang lebih sebesar 55% akibat keberadaan polifenol sebesar 20 g/L dalam sistem. Sedangkan dengan keberadaan polifenol sebesar 10 g/L dan 15 g/L terjadi pula penurunan produksi asam laktat masing-masing sebesar 33% dan 40%.



Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Polifenol pada Produksi Asam Laktat Menggunakan *Rhizopus oryzae*

Hal yang menarik yang bisa diamati dari Gambar 1, 2, dan 3 adalah pada awal penelitian terlihat bahwa kecepatan konsumsi glukosa pada sistem dengan polifenol lebih tinggi dibandingkan sistem tanpa polifenol, namun hal ini tidak diiringi dengan penambahan produksi asam laktat dan pertumbuhan mikroba pada

sistem dengan polifenol. Berdasarkan studi literatur yang dilakukan, konsumsi glukosa yang sangat besar di awal data kemungkinan disebabkan oleh dua hal.

Fenomena yang pertama adalah terjadinya konversi glukosa menjadi produk lain selain asam laktat yang terdorong akibat adanya polifenol. Fenomena sejenis dapat dilihat pada hasil penelitian Campos dkk. (2009) yang menunjukkan adanya kenaikan produk asam asetat dengan penambahan *phenolic acid* dalam sistem fermentasi asam laktat menggunakan bahan baku *wine*.

Fenomena ini didukung juga dengan penelitian Stockdale dan Selwyn (1971) yang menemukan bahwa senyawa fenol dapat menghambat sekresi enzim *Lactate dehydrogenase* yang berfungsi merubah *pyruvate* menjadi asam laktat. Dengan terhambatnya sekresi enzim tersebut maka akan terjadi penurunan pembentukan asam laktat. Namun belum diketahui secara jelas apakah enzim lain akan meningkat dengan terhambatnya sekresi enzim *Lactate dehydrogenase* yang mengakibatkan pembentukan produk lain menjadi lebih dominan.

Fenomena kedua adalah penggunaan glukosa pada awal data sangat besar karena digunakan untuk *maintenance* sel-sel mikroba. Hal ini bisa dikaitkan dengan rusaknya sel-sel mikroba akibat hadirnya polifenol yang menurut Leontopoulos dkk. (2015) dapat mengakibatkan matinya sel-sel mikroba pada konsentrasi polifenol tertentu. Oleh karena itu, alokasi energi hasil metabolisme glukosa akan banyak digunakan untuk membuat sel tetap hidup.

Teori ini pun juga didukung oleh postulat yang dikemukakan oleh Campos dkk. (2002) bahwa keberadaan senyawa fenol menyebabkan racun pada sitoplasma. Sitoplasma adalah bagian sel yang terbungkus oleh membran sel (bagian terluar sel) namun di luar inti sel. Senyawa fenol dapat masuk ke dalam membran sel dan terakumulasi di dalam sitoplasma. Keberadaan senyawa fenol dalam sitoplasma dapat menyebabkan pecahnya membran sel sehingga organ-organ sel dapat keluar dari dalam sel.

Beberapa analisis lanjutan yang dapat digunakan untuk memastikan fenomena yang terjadi adalah dengan melakukan analisis produk lain selain asam laktat seperti asam asetat, asam fumarat, asam sitrat, etanol, dan CO₂. Analisis kadar beberapa jenis enzim dalam sistem pun juga dapat membawa kepada kesimpulan perubahan *reaction pathway* akibat hadirnya polifenol. Analisis lainnya yang dapat dilakukan adalah mengukur aktivitas mikroba untuk memastikan berapa jumlah mikroba yang masih aktif dan yang sudah mati.

3.2. Evaluasi Konstanta Kinetika Reaksi

Evaluasi konstanta kinetika reaksi dilakukan dengan memasukkan Persamaan (1), (2), dan (3). Dari hasil simulasi didapatkan nilai konsentrasi mikroba, glukosa, dan asam laktat sepanjang waktu penelitian. Nilai simulasi akan dibandingkan dengan data hasil percobaan hingga mendapatkan nilai *error* terkecil dengan mengubah-ubah nilai konstanta kinetika reaksi.

Langkah pertama dalam evaluasi konstanta kinetika reaksi adalah mengevaluasi data penelitian sistem tanpa polifenol dengan model kinetika reaksi Monod. Setelah itu nilai *K_s* dan *μ_m* yang didapatkan dari evaluasi tersebut dipakai untuk evaluasi sistem dengan polifenol. Nilai *K_s* dan *μ_m* konstan terhadap variasi polifenol karena konstanta tersebut hanya sebagai fungsi jenis mikroba dan jenis substrat yang digunakan. Evaluasi sistem dengan polifenol menggunakan model *competitive*, *non-competitive*, dan *uncompetitive inhibitor*. Hasil dari masing-masing model dibandingkan dan dipilih model yang menghasilkan *error* paling kecil. Berdasarkan hasil simulasi, didapatkan bahwa nilai *error* terkecil berasal dari model *uncompetitive* dengan kesalahan relatif rata-rata total adalah 39,76%. Tabel 1 menunjukkan hasil evaluasi konstanta kinetika reaksi sistem.

Tabel 1. Hasil Evaluasi Konstanta Kinetika Reaksi Menggunakan Model *Uncompetitive*

Konsentrasi polifenol	<i>K_s</i> (g.L ⁻¹)	<i>μ_m</i> (jam ⁻¹)	<i>k₁</i> (g.g ⁻¹)	<i>k₂</i> (g.g ⁻¹)	<i>K_i</i> (g.L ⁻¹)	<i>k₃</i> (g.g ⁻¹)	<i>k₄</i> (g.g ⁻¹ .jam ⁻¹)
0 g/L	30,57	0,0745	4,95	0,10	0,00	1,95	0,65
10 g/L	30,57	0,0745	7,27	0,39	9,21	31,61	1,50
15 g/L	30,57	0,0745	14,96	0,02	9,03	58,49	0,20
20 g/L	30,57	0,0745	0,05	0,73	9,20	35,05	4,39

Nilai *K_s* dan *μ_m* adalah 30,57 g/L dan 0,07449 jam⁻¹ dan nilainya konstan pada setiap variasi polifenol. Sedangkan nilai *K_i* pada variasi 10, 15, dan 20 g/L adalah 9,12, 9,03, dan 9,20 g/L. Bila dilihat dari data *K_i* yang didapatkan, perubahan yang terjadi tidak terlalu signifikan antar variasi. Nilai *K_i* tidak dipengaruhi oleh konsentrasi inhibitor dalam sistem, melainkan hanya dipengaruhi oleh jenis inhibitor yang digunakan. Sehingga nilai *K_i* bisa dianggap konstan pada penelitian kali ini dengan nilai rerata yang didapatkan dari ketiga variasi adalah 9,12 g/L. Nilai *K_i* tersebut menunjukkan bahwa pada konsentrasi polifenol 9,12 g/L terjadi hambatan dalam sistem setengah dari nilai hambatan maksimum nya.

Perhitungan nilai konstanta yang lain menggunakan analisis regresi linier dan non-linier yang ditujukan untuk menemukan persamaan yang dapat merepresentasikan hubungan antara perubahan nilai konstanta reaksi dengan perubahan nilai konsentrasi polifenol (*I*). Beberapa bentuk persamaan yang coba diajukan dalam analisis ini adalah persamaan linier, polinomial orde 2, dan eksponensial. Ketiga bentuk persamaan ini dibandingkan nilai *R²* nya yang dapat mengindikasikan kesesuaian persamaan dengan data yang ada bila nilainya mendekati 1.

Berdasarkan hasil analisis didapatkan persamaan konstanta reaksi sebagai fungsi konsentrasi inhibitor sebagai berikut:

$$a) k_1 = -0,0845 I^2 + 1,5913 I + 4,214$$

$$b) k_2 = 0,0022 I^2 - 0,0213 I + 0,1437$$

$$c) k_3 = -0,2107 I^2 + 6,187 I + 0,3612$$

$$d) k_4 = 0,0192 I^2 - 0,2341 I + 0,8326$$

Hasil tersebut menunjukkan bahwa *k₁* dan *k₃* memiliki satu nilai maksimum sedangkan *k₂* dan *k₄* memiliki satu nilai minimum. Pada *range* konsentrasi polifenol 0-20 g/L nilai *k₁* selalu lebih besar dari nilai *k₂*. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan produk lebih mengikuti *growth associated model* dibandingkan *non-growth associated model* pada *range* konsentrasi polifenol 0-20 g/L (Shuler dan Kargi, 1992). Sedangkan nilai *k₃* selalu lebih besar daripada nilai *k₄* pada *range* konsentrasi polifenol 0-20 g/L. Hal ini menunjukkan bahwa nilai yield

produk (asam laktat) selalu lebih besar dibandingkan nilai yield mikroba pada *range* tersebut (Khanna dan Srivastava, 2005).

4. Kesimpulan

Keberadaan polifenol dalam sistem fermentasi asam laktat menggunakan *Rhizopus oryzae*, dapat menurunkan produksi asam laktat dan pertumbuhan mikroba pada kisaran penambahan polifenol 0-20 g/L. Meningkatnya konsentrasi polifenol akan menurunkan produksi asam laktat dari 40,55 g/L (sistem tanpa polifenol) menjadi 18,24 g/L (sistem dengan 20 g/L polifenol). Pertumbuhan mikroba pun mengalami penurunan dari 3,68 g/L (sistem tanpa polifenol) menjadi 0,51 g/L (sistem dengan 20 g/L polifenol).

Penambahan polifenol ke dalam sistem tersebut tidak terlalu berpengaruh pada konsumsi glukosa yang nilai konsentrasi akhirnya berkisar 10,94 s/d 19,28 g/L. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh terkonversinya glukosa menjadi produk samping dan alokasi untuk *maintenance* sel.

Model kinetika *uncompetitive inhibition* dapat merepresentasikan sistem fermentasi asam laktat menggunakan *Rhizopus oryzae* dengan hadirnya polifenol sebagai inhibitor dalam sistem tersebut pada kisaran konsentrasi polifenol 0-20 g/L.

5. Daftar Notasi

- μ_1 = laju pertumbuhan mikroba spesifik (mengikuti persamaan Monod), jam⁻¹
 μ_2 = laju pertumbuhan mikroba spesifik (mengikuti persamaan modifikasi Monod-*competitive inhibition*)
 μ_3 = laju pertumbuhan mikroba spesifik (mengikuti persamaan modifikasi Monod-*non-competitive inhibition*)
 μ_4 = laju pertumbuhan mikroba spesifik (mengikuti persamaan modifikasi Monod-*uncompetitive inhibition*)
 μ_m = laju pertumbuhan maksimum, jam⁻¹
 I = konsentrasi awal polifenol (inhibitor), g.L⁻¹
 K_I = konstanta penghambatan oleh inhibitor, g.L⁻¹

- K_s = konstanta penghambatan oleh substrat, g.L⁻¹
 k_1 = koefisien pembentukan produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan, g g⁻¹
 k_2 = koefisien pembentukan produk yang tidak berasosiasi dengan pertumbuhan, g g⁻¹ jam⁻¹
 k_3 = konstanta pada persamaan konsumsi glukosa, g g⁻¹
 k_4 = konstanta pada persamaan konsumsi glukosa, g g⁻¹ jam⁻¹
 P = konsentrasi produk (asam laktat), g.L⁻¹
 S = konsentrasi substrat (glukosa), g.L⁻¹
 t = waktu, jam
 X = konsentrasi mikroba, g.L⁻¹

6. Daftar Pustaka

- Campos F.M., Couto J.A., Hogg T.A., 2002, Influence of phenolic acids on growth and inactivation of *Oenococcus oeni* and *Lactobacillus hilgardii*, *Journal of Applied Microbiology*, 94, 167–174
 Campos F.M., Figueiredo A.R., Hogg T., 2009, Effect of phenolic acids on glucose and organic acid metabolism by lactic acid bacteria from wine, *Food Microbiology*, 26, 409–414
 Jin B., Pinghe Y., Yibong M., Ling Z.O., 2005, Production of Lactic Acid and Fungal Biomassa by *Rhizopus* Fungi from Food Processing Waste Streams, *Jurnal Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 32, 678 – 686
 Khanna S., Srivastava A.K., 2005, Productivity enhancement of poly-(β -hydroxybutyrate) by fed-batch cultivation of nutrients using variable (decreasing) nutrient rate by *Wautersia eutropha*, *Chemical Engineering Communications*, 195 (11), 1424-1436
 Leontopoulou S.V., Giavasis I., Petrotos K., Kokkoraa M. Makridis, 2015, Effect of Different Formulations of Polyphenolic Compounds Obtained from OMWW on the Growth of Several Fungal Plant and Food Borne Pathogens. *Studies in vitro and in vivo, Agriculture and Agricultural Science Procedia*, Elsevier

- Pramudyanti I.R., 2004, Pengaruh Pengaturan pH dengan CaCO_3 terhadap Produksi Asam Laktat dari Glukosa oleh *Rhizopus oryzae*, Jurusan Biologi FMIPA UNS, Solo.
- Shuler M.L., Kargi F., 1992. Bioprocess Engineering Basic Concepts, Prentice-Hall International Inc., New Jersey.
- Stockdale M., Selwyn J.M., 1971, Influence of Ring Substituents on the Action of Phenols on Some Dehydrogenases, Phosphokinases and the Soluble ATPase from Mitochondria, Eur. J. Biochem., 21, 416-423.
-