



Pengaruh Pengaturan pH dengan CaCO_3 terhadap Produksi Asam Laktat dari Glukosa oleh *Rhizopus oryzae*

*The influence of pH controlling using CaCO_3 against production of lactic acid from glucose by *Rhizopus oryzae**

IDAYU RIA PRAMUDYANTI, TIAHJADI PURWOKO[♥],
ARTINI PANGASTUTI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret (UNS) Surakarta 57126

Diterima: 13 Maret 2004. Disetujui: 1 Mei 2004.

ABSTRACT

The aim of this research was to study lactic acid product from glucose by *R. oryzae* without pH controlling, with pH 5 controlling, pH 6 controlling, and pH 7 controlling. Control of pH was done to avoid the accumulation of organic acids that could make pH decreasing on fermentation medium. This research used a treatment medium without pH controlling and three treatment medium with pH controlling. A treatment medium without pH controlling was added by 0.1 g CaCO_3 before fermentation while treatment medium with pH controlling were added by 5% CaCO_3 until pH 5, 6, 7 for each medium after 24 hours fermentation. Control of pH were done every 12 hours during fermentation. Fermentation lasted for 72 hours. The parametric measurement included glucose analysis, biomass and lactic acid product were done at the age of fermentation 24, 36, 48, 60 and 72 hours. The results showed that glucose consumption, biomass and lactic acid product were increased following increasing fermentation age and happened at all of treatment medium. The highest lactic acid product was 35.75 g/L on medium with pH 6 controlling at 72 hours fermentation, with $Y_{p/s}$ was 0.31 and efficiency of lactic acid fermentation was 62%. Lactic acid product on medium without pH controlling, with pH 5 controlling and with pH 7 controlling were 30; 25.45; and 24.70 g/L.

♥ Alamat korespondensi:

Jl. Ir. Sutami 36A, Surakarta 57126
Tel. & Fax.: +62-271-663375.
e-mail: biology@mipa.uns.ac.id

Keywords: pH controlling, CaCO_3 , lactic acid, *Rhizopus oryzae*.

PENDAHULUAN

Asam laktat adalah asam organik yang diproduksi oleh manusia, hewan, tumbuhan dan mikroorganisme. Asam laktat digunakan pada berbagai macam industri baik industri makanan, tekstil, kosmetik, obat-obatan, dan populer sebagai bahan baku plastik ramah lingkungan, yaitu polilaktat. Asam laktat telah lama diketahui dan dihasilkan oleh bakteri, terutama oleh spesies *Streptococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus* dan *L. bulgaricus* (Frederick dan Frederick, 1949).

Selain bakteri, ternyata jamur juga memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam laktat (Moat dan Foster, 1979). Menurut Mirdamadi *et al.* (2002) mikroorganisme yang paling penting dalam produksi asam laktat adalah genus *Lactobacillus* dari kelompok bakteri dan *Rhizopus oryzae* dari kelompok jamur. Keduanya memiliki kemampuan untuk menghasilkan asam laktat yang tinggi.

Perbedaan mendasar fermentasi antara *R. oryzae* dan *Lactobacillus* adalah metabolisme *R. oryzae* terjadi dalam suasana aerob, sedangkan

metabolisme *Lactobacillus* terjadi dalam suasana anaerob. Oleh karena itu fermentasi asam laktat oleh *R. oryzae* dapat terjadi dalam suasana aerob, sedangkan fermentasi asam laktat oleh *Lactobacillus* terjadi dalam suasana anaerob. Dibandingkan *Lactobacillus*, produksi asam laktat oleh *R. oryzae* memiliki kelebihan, yaitu menghasilkan hanya L-asam laktat dan biaya produksi yang murah (Skory *et al.*, 1998; Mirdamadi *et al.*, 2002). Nilai lebih L-asam laktat yaitu mudah diabsorpsi saluran pencernaan manusia, sehingga dapat digunakan dalam industri makanan dan obat-obatan.

Moat dan Foster (1979) menyebutkan bahwa jamur *Rhizopus* termasuk spesies heterofermentatif yang menggunakan jalur fosfoketolase sebagai jalur utama dari metabolisme glukosa. Jalur tersebut seperti yang digunakan oleh bakteri yang tergolong *Lactobacillus* heterofermentatif. Pada spesies heterofermentatif, fermentasi glukosa menghasilkan lebih dari satu produk dalam jumlah relatif sama, sedangkan pada spesies homofermentatif hanya menghasilkan satu produk fermentasi yang dominan.

Karbohidrat merupakan sumber karbon dan energi yang paling banyak digunakan dalam proses fermentasi. Sebagai sumber energi karbohidrat dimetabolisme melalui 2 cara yaitu respiratif dan fermentatif. *R. oryzae* merupakan mikroorganisme yang mampu memecah karbohidrat baik secara respiratif maupun fermentatif. Menurut Mirdamadi *et al.* (2002) *R. oryzae* dapat memfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat pada suasana aerob, jika medium tersebut miskin mineral. Medium miskin tersebut mengandung sumber karbon dan energi seperti sukrosa, pati, laktosa, galaktosa dan glukosa dalam jumlah berlebihan dan mengandung sedikit mineral seperti seng, besi, mangan, magnesium dan kalium. Yin *et al.* (1997) dalam Mirdamadi *et al.* (2002) menyebutkan bahwa glukosa adalah sumber karbon yang paling baik dalam produksi asam laktat oleh *R. oryzae*.

Lockwood *et al.* (1936) menyebutkan bahwa *R. oryzae* mampu mengubah glukosa menjadi asam laktat dalam suasana aerob apabila kadar mineral dalam medium fermentasi terbatas. Asam laktat yang diproduksi *R. oryzae*, bukan merupakan satu-satunya produk metabolisme seperti pada bakteri-bakteri homofermentatif asam laktat. Di samping asam laktat, *R. oryzae* memproduksi asam fumarat, asam tartrat, asam format, asam asetat, dan etanol (Schlegel dan Schmidt, 1994). Akumulasi asam organik hasil

fermentasi, termasuk asam laktat dalam medium dapat menghambat pertumbuhan jamur. Dalam fermentasi, kontrol pH penting sekali dilakukan karena pH yang optimum harus dipertahankan selama fermentasi (Fardiaz, 1988). Pengaturan pH dapat dilakukan dengan penambahan kalsium karbonat, kalsium hidroksida dan beberapa agen penetralisir yang lain sehingga pH medium cenderung mendekati netral (Prescott dan Dunn, 1959).

Dalam usaha untuk memproduksi asam laktat lebih banyak, biasanya ditambahkan kalsium karbonat dalam medium fermentasi. Kalsium karbonat pada dasarnya tidak larut dalam media yang netral dan basa, tetapi merupakan penetralisir untuk asam yang dihasilkan selama fermentasi (Lilly dan Barnett, 1951). Fungsi penambahan kalsium karbonat tersebut adalah untuk mengatur derajat keasaman (pH) medium fermentasi (Mirdamadi *et al.*, 2002). Kalsium karbonat merupakan penetralisir dari asam organik yang dihasilkan dalam proses fermentasi, sehingga pH medium dapat dipertahankan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui besarnya produk asam laktat dari glukosa oleh *R. oryzae* tanpa adanya kontrol pH dan dengan adanya kontrol pH 5, 6 dan 7.

BAHAN DAN METODE

Strain dan mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan murni *R. oryzae* FNCC 6078 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM. **Medium** penelitian terdiri dari medium dengan kontrol pH dan medium tanpa kontrol pH. Medium dengan kontrol pH: 6 g glukosa, 0,0075 g KH_2PO_4 , 0,015 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,0125 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 0,002 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dalam 50 mL akuades, medium tanpa kontrol pH (langsung ditambah CaCO_3): 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 dalam 50 mL akuades, dan medium PDA (potato, dextrosa, agar).

Penyiapan biakan. *R. oryzae* dibiakkan dalam medium PDA miring, kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari.

Fermentasi asam laktat. 1 mL inokulum *R. oryzae* dengan konsentrasi 5×10^6 cfu/ml diinokulasikan pada 1 medium perlakuan tanpa kontrol pH dan 3 medium perlakuan dengan kontrol pH yang telah disterilisasi (121°C, 15 menit) dan diukur pH awal medium fermentasi.

Medium perlakuan kemudian diinkubasi dan digoyang dengan *rotary shaker* (120 rpm) pada suhu 30°C. Setelah 24 jam fermentasi, medium dengan kontrol pH diatur pH (5, 6, 7) dengan penambahan 5% CaCO₃. Pengaturan pH dilakukan setiap 12 jam sampai 72 jam fermentasi. Fermentasi pada medium tanpa kontrol pH terus dilanjutkan sampai 72 jam. Pengukuran kadar asam laktat, gula reduksi dan biomassa dilakukan pada umur fermentasi 24, 36, 48, 60, dan 72 jam.

Pengukuran biomassa *R. oryzae*. Pengukuran biomassa menurut Fardiaz S. (1988) adalah sebagai berikut: Medium fermentasi disentrifuse (700 g) selama 10 menit, kemudian pelet diambil, sedangkan supernatan dipakai untuk analisis gula reduksi dan asam laktat. Pelet yang diperoleh dikeringkan sampai kering dan benar-benar konstan. Berat kering yang diperoleh dikurangi berat kering hasil sentrifuse medium sebelum fermentasi, maka diperoleh berat kering *R. oryzae*.

Analisis glukosa. Analisis glukosa dilakukan dengan menggunakan metode gula reduksi Nelson-Samogyi secara spektrofotometri (Sudarmadji dkk, 1984) sebagai berikut: Sampel (5 mL) ditambah 95 mL akuades kemudian digojog. Larutan sampel (1 mL) ditambahkan 1 mL larutan Nelson (lampiran 1), kemudian dipanaskan pada *water bath* pada suhu 100°C selama 20 menit. Larutan sampel didinginkan sampai mencapai suhu kamar, kemudian ditambahkan 1 mL larutan Arsenomolybdat. Larutan sampel digojog dengan vortex, kemudian ditambahkan akuades 7 mL dan digojog lagi. Larutan sampel diukur penyerapan (absorbansi) cahaya tampak (*visible*) pada panjang gelombang 540 nm. Nilai absorbansi sampel - nilai absorbansi blanko kemudian dikonversi ke g/L gula reduksi berdasarkan persamaan regresi senyawa standar (glukosa monohidrat), dengan konsentrasi dari glukosa yang ditentukan sebelumnya adalah 0,01; 0,1; 1 dan 10 g/L.

Analisis asam laktat. Medium fermentasi dipanaskan, diambil sampel (10 mL) dan disentrifuse (6000 g) Sampel dimasukkan dalam corong pisah kemudian ditambah 2,5 mL H₂SO₄ 10% dan 25 mL ether. Corong pisah digojog dan diambil bagian ether pada cawan petri yang sudah diketahui beratnya. Setelah dievaporasi diperoleh residu yaitu asam laktat. Penghitungan kadar asam laktat dari selisih berat (cawan petri + residu) dengan berat cawan petri kosong.

Penentuan *yield* asam laktat ($Y_{p/s}$) dan *yield* biomassa ($Y_{x/s}$). Besarnya produk asam laktat dan biomassa yang diperoleh setelah 72 jam fermentasi dapat digunakan untuk menentukan *yield*. *Yield* asam laktat ($Y_{p/s}$) diperoleh dari perbandingan asam laktat yang dihasilkan dengan konsumsi glukosa, sedangkan *yield* biomassa ($Y_{x/s}$) diperoleh dari perbandingan biomassa *R. oryzae* yang dihasilkan dengan konsumsi glukosa.

$$Y_{p/s} = \frac{\text{Produk asam laktat (g/l)}}{\text{konsumsi glukosa (g/l)}}$$

$$Y_{x/s} = \frac{\text{biomassa (g/l)}}{\text{konsumsi glukosa (g/l)}}$$

Penentuan efisiensi fermentasi asam laktat. Efisiensi fermentasi asam laktat oleh *R. oryzae* setelah 72 jam fermentasi pada penelitian ini dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{Efisiensi fermentasi asam laktat (\%)} = \frac{\text{perolehan asam laktat penelitian}}{\text{perolehan secara teoritis}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Perolehan asam laktat penelitian} &: Y_{p/s} \\ \text{Perolehan secara teoritis} &: 0,5 \end{aligned}$$

Analisis data. Data yang diperoleh dikonversi ke g/L kecuali biomassa, kemudian data dianalisis secara deskriptif dari tabel atau grafik untuk tiap-tiap parameter pengukuran.

HASIL DAN PEMBAHASAN

R. oryzae mampu memproduksi asam laktat dalam suasana aerob apabila medium miskin mineral. Fermentasi asam laktat oleh *R. oryzae* dalam penelitian ini menggunakan glukosa sebagai sumber karbon dan berlangsung selama 72 jam. Setelah 24 jam fermentasi, pH medium tanpa penambahan CaCO₃ sebelum fermentasi menunjukkan penurunan menjadi 3-4 dari pH awal, yaitu 5,4. Oleh karena itu, pengaturan pH masing-masing menjadi 5, 6, dan 7 dilakukan setelah 24 jam fermentasi.

Konsumsi glukosa oleh *R. oryzae*. Konsumsi glukosa oleh *R. oryzae* dapat diketahui dari selisih glukosa awal pada medium fermentasi (120 g/L) dengan hasil fermentasi. Setelah 24 jam fermentasi, konsumsi glukosa masing-masing pada medium dengan CaCO₃ (tanpa kontrol pH), dengan kontrol pH 5, 6 dan 7 cukup tinggi (Tabel

1). Konsumsi glukosa yang tinggi pada 24 jam pertama fermentasi menunjukkan bahwa glukosa pada awal fermentasi digunakan untuk pertumbuhan *R. oryzae*. Glukosa merupakan sumber energi dan sumber karbon bagi *R. oryzae*. Sebagai sumber energi, glukosa difermentasi oleh *R. oryzae* menjadi asam laktat, etanol dan asam organik lainnya, serta menghasilkan energi. Sedangkan sebagai sumber karbon, glukosa diubah menjadi biomassa oleh *R. oryzae*. Oleh karena itu konsumsi glukosa dan biomassa sampai 24 jam fermentasi tertinggi diperoleh dari medium tanpa kontrol pH dan dengan kontrol pH 6.

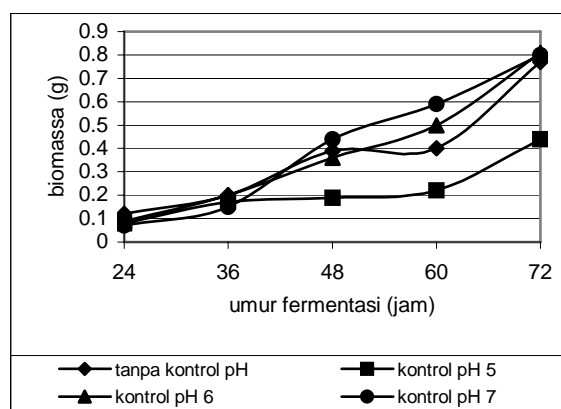
Tabel 1. Konsumsi glukosa oleh *R. oryzae* selama fermentasi pada medium perlakuan tanpa kontrol pH, dengan kontrol pH 5, dengan kontrol pH 6, dan dengan kontrol pH 7.

| Fermentasi s.d. jam ke- | Konsumsi glukosa (g/L) | | | |
|-------------------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | Tanpa kontrol pH | Kontrol pH 5 | Kontrol pH 6 | Kontrol pH 7 |
| 24 | 111,75 | 108,70 | 113,29 | 108,87 |
| 36 | 111,82 | 109,50 | 114,42 | 109,30 |
| 48 | 112,84 | 110,37 | 114,55 | 110,06 |
| 60 | 113,13 | 111,16 | 115,27 | 110,74 |
| 72 | 113,68 | 112,93 | 115,90 | 114,00 |

Setelah 72 jam fermentasi konsumsi glukosa tertinggi diperoleh dari medium dengan kontrol pH 6 dan dengan kontrol pH 7, masing-masing sebesar 115,90 dan 114,00 g/L (Tabel 1). Konsumsi glukosa tertinggi pada medium dengan kontrol pH 6 dan 7 terjadi karena pada kedua medium tersebut penurunan pH tidak terlalu rendah, sehingga pertumbuhan *R. oryzae* pada kedua medium menunjukkan nilai yang tertinggi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa lebih dari 90% glukosa terkonsumsi selama 72 jam fermentasi. Penelitian sebelumnya (Mirdamadi *et al.*, 2002) menunjukkan bahwa konsumsi glukosa oleh *R. oryzae* dalam fermentasi asam laktat mampu mencapai lebih dari 90% selama 3 hari fermentasi.

Biomassa *R. oryzae*. Selama fermentasi terjadi pertambahan biomassa *R. oryzae* pada setiap kelompok medium (Gambar 1). Pertambahan biomassa ini menunjukkan adanya pertumbuhan *R. oryzae* meskipun pada medium miskin mineral. Medium tersebut disebut miskin mineral karena kadar mineral pada medium penelitian sekitar setengah dari medium umum untuk pertumbuhan jamur, seperti medium Czapek's Dox.

Setelah 24 jam fermentasi, biomassa *R. oryzae* terbesar diperoleh dari medium tanpa kontrol pH, yaitu 0,12 g (Gambar 1). Nilai pH medium tanpa kontrol pH sebelum fermentasi adalah 5,8 karena adanya penambahan kalsium karbonat sebelum fermentasi. Sedangkan pH medium lainnya adalah 5,40. Menurut Lilly dan Barnett (1951) medium fermentasi yang memiliki nilai pH antara 5 dan 6 pada saat inokulasi sangat cocok untuk pertumbuhan jamur. Nilai pH awal pada medium tanpa kontrol pH mendukung pertumbuhan *R. oryzae*.



Gambar 1. Biomassa *R. oryzae* selama fermentasi asam laktat pada medium perlakuan tanpa kontrol pH, dengan kontrol pH 5, dengan kontrol pH 6, dan dengan kontrol pH 7.

Akumulasi asam laktat selama fermentasi dapat menghambat pertumbuhan jamur *R. oryzae* (Mirdamadi *et al.*, 2002). Penambahan kalsium karbonat dimaksudkan agar asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi terikat menjadi kalsium laktat, sehingga asam laktat bebas dalam medium menjadi rendah. Kalsium karbonat selain sebagai penetralisir asam yang dihasilkan selama fermentasi, juga mendukung pertumbuhan *R. oryzae*. Young dan Bennett (1922) dalam Frederick dan Frederick (1947) menyebutkan bahwa kalsium secara umum berpengaruh baik pada pertumbuhan jamur termasuk *Rhizopus*. Penelitian Young dan Bennett (1922) tersebut menunjukkan dengan adanya kalsium pada medium fermentasi, pertumbuhan *R. oryzae* meningkat daripada medium tanpa penambahan kalsium.

Setelah 72 jam fermentasi, biomassa yang diperoleh dari medium dengan kontrol pH 5 (0,44 g) lebih rendah daripada tiga medium lainnya yaitu 0,77; 0,80; dan 0,81 g pada medium masing-masing tanpa kontrol pH, dengan kontrol pH 7 dan dengan kontrol pH 6. Hal itu

menunjukkan bahwa medium dengan kontrol pH 5 tidak mendukung pertumbuhan *R. oryzae* selama fermentasi asam laktat dibandingkan ketiga medium lainnya. Sebaliknya, pemberian CaCO_3 selama fermentasi berlangsung sehingga pH terjaga menjadi 6 dan 7 memungkinkan *R. oryzae* tumbuh baik.

Produksi asam laktat oleh *R. oryzae*.

Produksi asam laktat oleh *R. oryzae* selama fermentasi meningkat seiring bertambahnya umur fermentasi. Setelah 24 jam fermentasi, produk asam laktat tertinggi dihasilkan pada medium tanpa kontrol pH, yaitu 14,55 g/L (Tabel 2). Hal itu karena sejak awal fermentasi, asam laktat yang dihasilkan langsung terikat oleh CaCO_3 . Oleh karena itu pertumbuhan *R. oryzae* juga relatif baik, sehingga produksi asam laktat juga tinggi. Namun pada akhir fermentasi (72 jam) produk asam laktat tertinggi diperoleh dari medium dengan kontrol pH 6, yaitu 35,75 g/L (Tabel 2). Produk asam laktat terbesar pada medium dengan kontrol pH 6 terjadi karena penambahan CaCO_3 sedikit demi sedikit setiap 12 jam dan menjaga pH menjadi 6 menyebabkan pertumbuhan *R. oryzae* menjadi lebih baik pada fermentasi setelah 24 jam, sehingga pada akhir fermentasi asam laktat yang dihasilkan lebih banyak daripada medium tanpa kontrol pH. Penelitian sebelumnya (Mirdamadi *et al.*, 2002) menyebutkan bahwa *R. oryzae* mampu menghasilkan 31,55 g/L asam laktat selama 60 jam fermentasi dari medium glukosa 120 g/L yang ditambah CaCO_3 setelah 24 jam fermentasi. Penelitian tentang produksi asam laktat oleh bakteri telah banyak dilakukan. Penelitian sebelumnya (Hongo *et al.*, 1986) menyebutkan bahwa fermentasi oleh *Lactobacillus delbrueckii* mampu menghasilkan 82,20 g/L asam laktat. Tellez-Luis *et al.* (2003) juga menggunakan *Lactobacillus delbrueckii* dalam fermentasi asam laktat dan dihasilkan 93,4 g/L asam laktat dalam medium *corn steep liquor* selama 80 jam fermentasi. Apabila dibandingkan dengan bakteri *Lactobacillus delbrueckii*, besarnya produk asam laktat oleh *R. oryzae* dalam penelitian ini lebih rendah. Produk asam laktat yang tinggi pada *Lactobacillus delbrueckii* terjadi karena bakteri tersebut merupakan bakteri asam laktat yang bersifat homofermentatif, sehingga asam laktat merupakan produk fermentasi yang dominan.

Asam laktat yang dihasilkan oleh *R. oryzae* hanya dalam bentuk L(+)-asam laktat (Mirdamadi *et al.*, 2002). Vaccari *et al.* (1993) melaporkan bahwa bakteri *Lactobacillus subsp*

casei mampu menghasilkan asam laktat dalam bentuk L(+)-asam laktat dengan kemurnian 97,6%. Pengaturan pH secara kontinyu pada medium fermentasi asam laktat oleh bakteri juga berpengaruh terhadap asam laktat yang dihasilkan. Hongo *et al.* (1986) menyebutkan bahwa dengan adanya pengaturan pH yang kontinyu pada fermentasi asam laktat oleh *Lactobacillus delbrueckii* dapat meningkatkan asam laktat yang dihasilkan.

Tabel 2. Produk asam laktat oleh *R. oryzae* selama fermentasi pada medium perlakuan tanpa kontrol pH, dengan kontrol pH 5, dengan kontrol pH 6, dan dengan kontrol pH 7.

| Fermentasi s.d. jam ke- | Produk asam laktat (g/L) | | | |
|-------------------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | Tanpa kontrol pH | Kontrol pH 5 | Kontrol pH 6 | Kontrol pH 7 |
| 24 | 14,55 | 8,35 | 11,70 | 10,50 |
| 36 | 19,10 | 13,60 | 15,30 | 14,55 |
| 48 | 20,10 | 16,01 | 15,75 | 17,15 |
| 60 | 20,60 | 19,60 | 16,80 | 19,55 |
| 72 | 30,00 | 25,45 | 35,75 | 24,70 |

Meskipun biomassa *R. oryzae* dan konsumsi glukosa pada medium dengan kontrol pH 7 lebih tinggi daripada medium dengan kontrol pH 5, tetapi produksi asam laktat setelah 72 jam fermentasi pada medium dengan kontrol pH 7 lebih rendah (Tabel 2). Hal itu karena dalam suasana asam, glukosa cenderung terfermentasi menjadi asam laktat sedangkan dalam suasana netral atau basa, glukosa cenderung terfermentasi menjadi etanol seperti yang terjadi pada fermentasi oleh bakteri asam laktat *Streptococcus faecalis* (Moat dan Foster, 1979). Oleh karena itu pada medium dengan kontrol pH 7, produksi asam laktat lebih rendah daripada medium dengan kontrol pH 5 maupun medium perlakuan lainnya. Pada medium dengan kontrol pH 7 diduga memiliki kandungan etanol lebih tinggi daripada medium perlakuan lainnya.

Koefisien perolehan (Yield) dan efisiensi fermentasi asam laktat oleh

***R. oryzae*.** *R. oryzae* mampu memfermentasi glukosa melalui jalur fosfoketolase menghasilkan asam laktat, etanol dan CO_2 (Moat dan Foster, 1979). Secara teori, 1 g glukosa menghasilkan 0,5 g asam laktat, 0,25 g etanol dan 0,24 g CO_2 . Oleh karena itu, maka koefisien perolehan asam laktat (yield asam laktat) secara teori adalah 0,5. Yield asam laktat ($Y_{p/s}$) pada fermentasi asam laktat

oleh *R. oryzae* setelah 72 jam fermentasi diperoleh dari perbandingan produksi asam laktat dengan konsumsi glukosa. Dari hasil penelitian, nilai $Y_{p/s}$ setelah 72 jam fermentasi (Tabel 3) yang diperoleh pada semua medium perlakuan kurang dari 0,5. Nilai $Y_{p/s}$ yang kurang dari 0,5 terutama disebabkan oleh dipergunakannya sebagian glukosa untuk keperluan hidup *R. oryzae*.

Tabel 3. Yield asam laktat ($Y_{p/s}$: produksi asam laktat/konsumsi glukosa), yield biomassa *R. oryzae* ($Y_{x/s}$: biomassa/konsumsi glukosa) dan efisiensi fermentasi asam laktat setelah 72 jam fermentasi.

| Medium perlakuan | $Y_{p/s}$ | $Y_{x/s}$ | Efisiensi (%) |
|------------------|-----------|-----------|---------------|
| Tanpa kontrol pH | 0,26 | 0,14 | 52 |
| Kontrol pH 5 | 0,23 | 0,08 | 46 |
| Kontrol pH 6 | 0,31 | 0,14 | 62 |
| Kontrol pH 7 | 0,22 | 0,14 | 44 |

Glukosa difermentasi menjadi produk-produk fermentasi berupa biomassa dan senyawa-senyawa organik oleh *R. oryzae*. Koefisien perolehan biomassa ($Y_{x/s}$) setelah 72 jam fermentasi dari penelitian dapat dihitung dari perbandingan biomassa *R. oryzae* yang dihasilkan setelah dikonversi ke g/L dengan konsumsi glukosa. Nilai $Y_{x/s}$ yang didapatkan dari penelitian ini sekitar 0,08-0,14 (Tabel 3). Jadi terdapat 86-92% konsumsi glukosa berubah menjadi senyawa organik hasil fermentasi. Produk senyawa organik yang diukur pada penelitian ini hanya asam laktat. Yield asam laktat ($Y_{p/s}$) adalah 0,22; 0,23; 0,26; dan 0,31 pada masing-masing medium dengan kontrol pH 7, dengan kontrol pH 5, tanpa kontrol pH, dan dengan kontrol pH 6 (Tabel 3). Dengan demikian terdapat 55-70% konsumsi glukosa yang diubah menjadi etanol, CO₂, dan senyawa organik lainnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa koefisien perolehan asam laktat ($Y_{p/s}$) tertinggi dihasilkan pada medium dengan kontrol pH 6.

Berdasarkan yield asam laktat yang diperoleh ($Y_{p/s}$), maka dapat dihitung efisiensi fermentasi asam laktat dari penelitian yang merupakan prosentase perbandingan perolehan asam laktat hasil penelitian ($Y_{p/s}$) dengan perolehan asam laktat secara teoritis (0,5). Tabel 3 menunjukkan bahwa efisiensi tertinggi dihasilkan pada medium dengan kontrol pH 6 yaitu sebesar 62%.

Nilai efisiensi fermentasi asam laktat pada medium dengan kontrol pH 6 pada penelitian ini menunjukkan bioproses pada penelitian yang cukup baik.

KESIMPULAN

Produk asam laktat terbesar setelah 72 jam fermentasi diperoleh dari medium yang nilai pH diatur menjadi 6 yaitu sebesar 35,75 g/L, dengan yield asam laktat ($Y_{p/s}$) sebesar 0,31 dan efisiensi fermentasi asam laktat sebesar 62%. Produk asam laktat pada medium tanpa kontrol pH, dengan kontrol pH 5 dan dengan kontrol pH 7 masing-masing sebesar 30,00; 25,45 dan 24,70 g/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Fardiaz, S. 1988. *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: PAU IPB.
- Frederick, A.W. and T.W. Frederick. 1949. *The Fungi: Vol II*. London: John Wiley & Sons, Inc.
- Hang, Y.D. 1989. Direct fermentation of corn to L(+)-lactic acid by *Rhizopus oryzae*. *Biotechnology Letter* 11 (4): 299-300.
- Hongo, M., Y. Nomura, and M. Iwahara. 1986. Novel method of lactic acid production by electro dialysis fermentation. *Applied Environmental Microbiology* 52 (2): 314-319.
- Lilly, V.G and H.L. Barnett. 1951. *Physiology of The Fungi*. New York: Mc Graw Hill Book Company, Inc.
- Lockwood, L.B., G.E. Ward, and O.E. May. 1936. The Physiology of *Rhizopus oryzae*. *Journal of Agriculture Research* 53: 849-857.
- Mirdamadi, S., H. Sadeghi, N. Sharafi, M. Fallahpour, F. Mohseni, and M.R. Bakhtiari. 2002. Comparison of lactic acid isomers produced by fungal and bacterial strains. *Iran Biomed Journal* 6 (2&3): 69-75.
- Moat, A.G. and J.W. Foster. 1979. *Microbial Physiology*. New York: John Wiley & Sons.
- Prescott, M.C. and C.G. Dunn. 1959. *Industrial Microbiology*. London: Mc Graw Hill Book Company Inc.
- Schlegel dan Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum* Penerjemah: Tedjo Baskoro, R.M.T. Yogyakarta: UGM Press.
- Skory, C.D., S.N. Freer, and R.J. Bothast. 1998. Production of L-lactic acid by *Rhizopus oryzae* under oxygen limiting condition. *Biotechnology Letter* 20: 191-194.
- Sudarmadji, S., B. Haryono, dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi ketiga. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Tellez-Luis, S.J., A.B. Moldes, J.L. Alonso, dan M. Vasques. 2003. Optimization of lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii* through response surface methodology. *Journal of Food Science* 68 (4): 1-6.
- Vaccari, G., Y.R.A. Gonzalez-Vara, A.L. Campi, E. Dosi, P. Brigidi, and D. Matteuzzi. 1993. Fermentative production of L-lactic acid by *Lactobacillus casei* DSM 20011 and product recovery using ion exchange resins. *Applied Microbiology and Biotechnology* 40: 23-27