

PENGARUH pH, KONSENTRASI SUBSTRAT, PENAMBAHAN KALSIMUM KARBONAT DAN WAKTU FERMENTASI TERHADAP PEROLEHAN ASAM LAKTAT DARI KULIT PISANG

Fani Ferdaus¹⁾, Meliani Okta Wijayanti¹⁾, Ery Susiani Retnonigtyas²⁾, Wenny Irawati²⁾

ABSTRAK

Asam laktat mempunyai kelarutan yang tinggi dan mudah dipolimerisasi, oleh karenanya asam laktat banyak dibutuhkan di berbagai industri seperti pada industri makanan, minuman, kosmetik maupun farmasi. Prinsip utama pembuatan asam laktat pada penelitian ini adalah proses fermentasi gula dengan proses glikolisis.

Kulit pisang kepok ditimbang, ditambahkan akuades kemudian diblender dan disaring. Setelah itu dilakukan pengukuran pH filtrat kulit pisang kepok dan dikondisikan pada pH 3, 4, 5 dan 6. Ke dalam filtrat kulit pisang kepok ditambahkan nutrisi dan starter yang sudah diinokulasikan dengan 2 ose bakteri *Lactobacillus plantarum*, kemudian diinkubasi dengan kondisi anaerob pada 35°C selama 23 hari. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan pengamatan jumlah bakteri dan diberhentikan proses fermentasinya kemudian diuji kadar glukosa dan dilakukan proses pemurnian asam laktat. Pada proses pemurnian asam laktat digunakan resin Amberlite IRA 400. Resin Amberlite IRA-400 memberikan kapasitas adsorpsi yang besar.

pH, konsentrasi substrat, dan penambahan CaCO_3 berpengaruh terhadap kadar asam laktat, kadar glukosa sisa dan jumlah bakteri yang dihasilkan. Kondisi optimum proses fermentasi filtrat kulit pisang kepok dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* dicapai pada konsentrasi substrat 75 mg/L, dengan pH awal media fermentasi = 5 dan dengan waktu fermentasi selama 20 hari. Untuk tahap kedua kondisi optimumnya berada pada penambahan CaCO_3 sebanyak 0,2%

Kata kunci: kulit pisang, *Lactobacillus plantarum*, fermentasi, asam laktat

PENDAHULUAN

Asam laktat mempunyai sifat kelarutan yang tinggi dan mudah dipolimerisasi untuk pembuatan berbagai jenis polimer dan resin. Oleh karena itu, asam laktat banyak dibutuhkan di berbagai industri seperti pada industri makanan, minuman, kosmetik maupun farmasi. Mengingat penggunaannya yang cukup luas, diharapkan melalui penelitian ini dapat dikembangkan industri asam laktat di Indonesia. Pada tahun 2004, kebutuhan industri nasional terhadap asam laktat mencapai satu juta ton per tahun yang semuanya diimpor dari sejumlah negara. Nilai impor asam laktat di Indonesia mencapai 2 juta dolar Amerika Serikat^[1].

Asam laktat dapat dibuat dari berbagai sumber yang mengandung karbohidrat. Pada penelitian ini digunakan limbah buah pisang, yaitu kulit pisang sebagai bahan baku pembuatan asam laktat karena kulit pisang mengandung karbohidrat^[2]. Selama ini limbah kulit pisang hanya dibuang begitu saja dan belum dimanfaatkan secara optimal. Melalui pemanfaatan kulit pisang ini, diharapkan dapat mengurangi dampak limbah kulit pisang. Prinsip utama pembuatan asam laktat pada penelitian ini adalah proses fermentasi glukosa dengan proses glikolisis. Karbohidrat mengalami pemecahan

menjadi glukosa, dan selanjutnya glukosa diubah menjadi asam laktat dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Beberapa parameter penting dalam proses fermentasi adalah pH media, konsentrasi substrat sebagai sumber energi yang diperlukan oleh bakteri untuk berkembang biak dan waktu fermentasi. Untuk menjaga stabilitas pH, ke dalam media fermentasi ditambahkan kalsium karbonat^[3]. Jumlah asam laktat yang dihasilkan berhubungan erat dengan pH media fermentasi, jumlah bakteri yang berkembang biak dalam media fermentasi dan jumlah glukosa yang dikonsumsi oleh bakteri asam laktat.

TINJAUAN PUSTAKA

Pisang (*Musa Paradisiaca*)

Buah pisang berasal dari Asia Tenggara. Kini tanaman pisang telah menyebar ke seluruh negara. Buah pisang sangat populer dan digemari oleh semua lapisan masyarakat. Pisang yang dikonsumsi sebagai buah meja ini berasal dari hasil persilangan alamiah antara *Musa acuminata* dengan *Musa balbisana* yang kini turunannya dikenal lebih dari ratusan jenis pisang, yakni pisang meja, pisang rebus (olahan), dan pisang hias. Pisang meja yang terkenal antara lain pisang raja, pisang mas,

¹⁾ Mahasiswa di Fakultas Teknik Jurusan Teknik Kimia Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

²⁾ Staf Pengajar di Fakultas Teknik Jurusan Teknik Kimia Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

pisang ambon kuning, pisang ambon putih, pisang ambon hijau, *cavendish*, dan pisang sere. Pisang merupakan tanaman semak berbatang semu (*pseudostem*) tingginya bervariasi antara 1-4 m, tergantung varietasnya. Tanaman pisang dapat tumbuh baik di dataran rendah hingga dataran tinggi 1.000 m di atas permukaan laut yang bertipe iklim basah. Curah hujan berkisar 1.000-30.000 mm per tahun. Tanaman ini lebih senang tumbuh di tanah yang subur dengan pH tanah berkisar 4,5-7,5. Di daerah yang iklimnya agak kering dengan musim kemarau berkisar 4-6 bulan, tanaman pisang masih tumbuh asalkan ketinggian air tanah kurang dari 150 cm di atas permukaan laut. Lahan yang air tanahnya sangat dangkal kurang baik untuk tanaman pisang. Bila pada lahan ini ditanami tanaman pisang, tanaman akan tumbuh kerdil dan akan terserang penyakit layu. Tanaman pisang lebih senang ditanam di tempat terbuka, tetapi tidak tahan terhadap tiupan angin kencang karena daunnya mudah sobek. Daun yang sobek kurang mampu melakukan fotosintesis. Buah pisang yang belum matang dapat dibuat sebagai keripik, sedangkan buah yang telah matang dapat dibuat sale dan pisang goreng. Buah yang masih muda dapat dibuat tepung dengan harga jual tinggi. Di Indonesia Timur, seperti Sumba, Timor, dan Kupang, batang pisang digunakan sebagai makanan ternak kerbau. Daun pisang batu biasa digunakan untuk pembungkus karena tahan sobek^[3]. Selain yang dijelaskan di atas, kegunaan pisang masih banyak. Umbi pisang dapat digunakan sebagai bahan utama pembuatan hiasan pernikahan adat Jawa, sebagai media untuk meletakkan wayang, bahkan saat ini serat dari bonggol pisang dapat ditunen menjadi kain dan dibuat produk kerajinan tangan. Secara sederhana kulit pisang juga dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan alkohol, namun pada kesempatan ini dicoba untuk memanfaatkan kulit pisang sebagai bahan baku pembuatan asam laktat. Seperti diketahui, kalau di desa kulit pisang digunakan sebagai makanan ternak, sedangkan di kota hanya dibuang sebagai sampah yang cukup banyak jumlahnya, yaitu kira-kira 1/3 dari buah pisang itu sendiri. Komposisi kulit pisang yaitu air 68,9(%), karbohidrat 18,5(%), lemak 2,11(%), protein 0,32(%), kalsium 715(mg/100gr), fosfor 117 (mg/100gr), dan besi 1,6 (mg/100gr)^[3].

Metabolisme Karbohidrat

Karbohidrat adalah komponen dalam makanan yang merupakan sumber energi utama bagi makhluk hidup. Karbohidrat juga berfungsi sebagai penyangga di dalam dinding sel bakteri. Karbohidrat mengalami proses hidrolisis sehingga menghasilkan glukosa, fruktosa, galaktosa, dan manosa serta monosakarida lainnya^[5]. Pati merupakan jenis karbohidrat yang jarang dapat dihidrolisis menjadi glukosa oleh bakteri asam laktat. Proses hidrolisis pati menjadi glukosa dengan enzim amilase hanya dapat dilakukan oleh beberapa jenis bakteri asam laktat, salah satu diantaranya adalah *Lactobacillus plantarum*^[3]. Metabolisme karbohidrat yang paling utama adalah proses glikolisis. Pada dasarnya proses glikolisis dapat dibagi ke dalam 2 bagian yaitu yang tidak menggunakan oksigen atau anaerob dan yang menggunakan oksigen atau aerob. Reaksi anaerob yang disebut juga alur *Emden-Meyerhof* yang mengacu pada homofermentatif karena menghasilkan sebagian besar asam laktat (95%) sebagai produk utama. Sedangkan reaksi aerob merupakan alur *pentose-phosphate* yang mengacu pada heterofermentatif karena selain menghasilkan asam laktat, reaksi pada alur ini menghasilkan produk samping seperti etanol, asetat, dan CO₂^[5,6]. Produksi asam laktat pada percobaan ini dilakukan dengan proses fermentasi dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus plantarum* cenderung merupakan bakteri anaerob. Oleh karena itu, reaksinya merupakan alur *Emden-Meyerhof* yang mengacu pada homofermentatif. Proses yang terjadi pada metabolisme karbohidrat yaitu:

Heksokinase

Tahap pertama proses glikolisis adalah pengubahan glukosa menjadi glukosa-6-fosfat dengan reaksi fosforilasi. Enzim heksokinase merupakan katalis dalam reaksi tersebut dibantu oleh ion Mg²⁺ sebagai kofaktor. Apabila glukosa-6-fosfat terbentuk dalam jumlah banyak, maka senyawa ini akan menjadi inhibitor bagi enzim tersebut. Selanjutnya enzim akan aktif kembali apabila glukosa-6-fosfat menurun pada tingkat tertentu.

Fosfoheksoisomerase

Reaksi berikutnya ialah isomerisasi, yaitu pengubahan glukosa-6-fosfat menjadi fruktosa-6-fosfat, dengan enzim fosfoglukoisomerase.

Aldolase

Reaksi tahap keempat dalam rangkaian reaksi glikolisis adalah penguraian molekul fruktosa-1,6-difosfat membentuk 2 molekul triosa fosfat, yaitu dihidroksi aseton dan D-gliserilal-dehida-3-fosfat. Dalam tahap ini enzim aldolase berperan sebagai katalis.

Triosa fosfat Isomerase

Dalam reaksi penguraian oleh enzim aldolase terbentuk 2 macam senyawa yaitu D-gliseraldehida-3-fosfat dan dihidroksi-asetonfosfat. Yang mengalami reaksi lebih lanjut dalam proses glikolisis ialah D-gliseraldehida-3-fosfat. Jika dihidroksi-asetonfosfat tidak dapat diubah menjadi D-gliseraldehida-3-fosfat, maka dihidroksi-asetonfosfat tertimbun. Hal ini tidak akan berlangsung lama, karena adanya enzim triosa fosfat isomerase yang dapat mengubahnya menjadi D-gliseraldehida-3-fosfat.

Gliseraldehida-3-fosfat Dehidrogenase

Enzim ini bekerja sebagai katalis pada reaksi oksidasi gliseraldehida-3-fosfat menjadi asam 1,3 difosfoglisarat. Dalam reaksi ini digunakan koenzim NAD^+ , sedangkan gugus fosfat diperoleh dari asam fosfat. Reaksi oksidasi ini mengubah aldehida menjadi asam karboksilat.

Fosfoglisarat kinase

Reaksi yang menggunakan enzim ini ialah reaksi perubahan asam 1,3 difosfoglisarat menjadi asam 3 fosfoglisarat. Dalam reaksi ini terbentuk 1 molekul ATP , dan ADP serta ion Mg^{2+} diperlukan sebagai kofaktor.

Fosfoglisarat Mutase

Fosfoglisarat Mutase bekerja sebagai katalis pada reaksi perubahan asam 3-fosfoglisarat menjadi asam 2-fosfoglisarat. Enzim ini berfungsi untuk memindahkan gugus fosfat dari 1 atom C kepada atom C lain dalam satu molekul.

Enolase

Reaksi berikutnya ialah reaksi pembentukan asam fosfoenolpiruvat dari asam 2-fosfoglisarat dengan katalis enzim enolase dan ion Mg^{2+} sebagai kofaktor. Reaksi pembentukan asam fosfoenolpiruvat ini ialah reaksi dehidrasi. Adanya ion F^- dapat menghambat kerjanya enzim enolase, sebab ion F^- dengan Mg^{2+} dan fosfat dapat membentuk kompleks magnesium fluoro fosfat. Dengan terbentuknya kompleks ini akan mengurangi jumlah ion Mg^{2+} dalam campuran reaksi dan

akibat berkurangnya ion Mg^{2+} , maka efektivitas reaksi berkurang.

Piruvat kinase

Enzim ini merupakan katalis pada reaksi pemindahan gugus fosfat dari asam fosfoenolpiruvat kepada ADP , sehingga terbentuk molekul asam piruvat.

Laktat Dehidrogenase

Reaksi yang menggunakan enzim laktat dehidrogenase ini ialah reaksi tahap akhir glikolisis, yaitu pembentukan asam laktat dengan cara reduksi asam piruvat. Dalam reaksi ini digunakan $NADH$ sebagai koenzim.

Asam Laktat

Pembuatan asam laktat dapat dilakukan dengan 2 cara yaitu dengan cara sintesis kimia dan dengan cara fermentasi karbohidrat. Sintesis kimia yaitu dengan cara menambahkan hidrogen sianida pada asetaldehid untuk memproduksi laktonitril. Laktonitril kemudian mengalami proses pemurnian dengan distilasi dan untuk menghasilkan asam laktat, ditambahkan asam klorida pekat atau asam sulfat dengan garam amonium sebagai hasil sampingnya^[7]. Prinsip utama dalam pembuatan asam laktat dengan proses fermentasi adalah pemecahan karbohidrat menjadi bentuk monosakarida dan dari monosakarida dengan bantuan enzim yang dihasilkan oleh *Lactobacillus sp* akan diubah menjadi asam laktat. Untuk industri makanan dan minuman, biasanya diperlukan asam laktat berkadar 50-80%, sedangkan untuk industri farmasi diperlukan kadar yang lebih tinggi yaitu berkadar 85-90%. Dalam produksi asam laktat, dihasilkan asam laktat yang tidak murni. Kemurniannya mencapai 80% hingga 95%^[8]. Sifat-sifat asam laktat: spesifik graviti pada $15^{\circ}C$ dengan pembanding air pada $4^{\circ}C=1,249$; titik leleh = $16,8^{\circ}C$; titik didih = $122^{\circ}C$; dapat larut dalam air, alkohol, eter, dan gliseril; tidak larut dalam kloroform, eter disulfida, dan karbon disulfida. Asam laktat murni tidak berbau, tidak berwarna, dan bersifat higroskopis pada suhu kamar. Asam laktat tidak murni berwarna kekuningan karena mengandung pigmen karoten^[9].

Bakteri Asam Laktat

Untuk mengubah asam piruvat hasil reaksi glikolisis menjadi asam laktat, diperlukan enzim laktat dehidrogenase. Enzim tersebut dihasilkan oleh bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat

dibagi menjadi 2 yaitu homofermentatif dan heterofermentatif^[10].

1. Produksi asam laktat untuk homofermentatif dihasilkan dari glukosa melalui alur Embden–Meyerhof.
2. Produksi asam laktat untuk heterofermentatif dihasilkan dari glukosa melalui alur *pentose-phosphate*. Selain dihasilkan asam laktat, dihasilkan pula etanol dan karbon dioksida sebagai produk samping.

Pada proses fermentasi secara heterofermentatif atau homofermentatif, digunakan jenis bakteri yang berbeda. Bakteri yang digunakan pada heterofermentatif menghasilkan asam laktat dalam jumlah yang sedikit, sedangkan bakteri yang digunakan dalam homofermentatif menghasilkan asam laktat yang lebih banyak.

Lactobacillus plantarum

Lactobacillus plantarum merupakan bakteri gram positif berbentuk batang. Bakteri gram positif adalah bakteri yang tampak biru atau ungu setelah mengalami pewarnaan gram. *Lactobacillus plantarum* hidup dengan kisaran suhu 5-53°C dan pada kondisi pH 4,5–6,5, suhu optimum biasanya berkisar 30-40°C^[11]. Gardner dan kawan-kawan melakukan penelitian produksi asam laktat dengan menggunakan 4 macam bakteri yang berbeda yaitu *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *L.brevis*, dan *Ln.mesenteroides*. Dari keempat bakteri tersebut yang dapat menghasilkan asam laktat yang paling tinggi yaitu *Lactobacillus plantarum*^[12]. *Lactobacillus plantarum* merupakan salah satu bakteri penghasil asam laktat dengan kecenderungan hidup pada kondisi anaerob^[10], sehingga hasil akhir fermentasi hanya berupa asam laktat. Maka pada penelitian ini digunakan bakteri *Lactobacillus plantarum*.

Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Fermentasi

Istilah fermentasi sering diartikan sama dengan semua istilah mengenai berbagai aktivitas mikroba. Dalam mikrobiologi, bagaimanapun fermentasi hanya mengenai spesifikasi aktivitas mikroba. Oleh karena itu, proses fermentasi sangat berhubungan dengan aktivitas mikroba. Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas mikroba antara lain; kondisi pH, suhu, kandungan oksigen dan adanya substrat^[13].

1. Kondisi pH

Kondisi pH media sangat berpengaruh pada jenis mikroba yang tumbuh. Mikroba pada umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 3-6 unit. Kebanyakan mikroba dipengaruhi oleh pH optimum yang menyebabkan pertumbuhannya menjadi optimum. Berdasarkan daerah pH kehidupannya, mikroba dibagi menjadi 3 golongan yaitu mikroba asidofilik (mikroba yang dapat tumbuh pada pH berkisar 2,0-5,0); mikroba mesofilik (mikroba yang dapat tumbuh pada pH berkisar 5,5-8,0) dan mikroba alkalifilik (mikroba yang dapat tumbuh pada pH berkisar 8,4-9,5)^[14]. Bakteri *Lactobacillus plantarum* merupakan jenis mikroba mesofilik, karena hidup pada pH berkisar 4,5-6,5^[11].

2. Suhu

Beberapa jenis mikroba dapat hidup pada daerah suhu yang luas, sedangkan jenis yang lainnya pada daerah suhu yang terbatas. Pada umumnya batas daerah suhu bagi kehidupan mikroba terletak antara 0 sampai dengan 90°C. Daya tahan mikroba terhadap suhu tidak sama untuk tiap-tiap spesies. Masing-masing mempunyai suhu optimum, minimum, dan maksimum untuk pertumbuhannya. Hal ini disebabkan karena di bawah suhu minimum dan di atas suhu maksimum, aktivitas enzim akan berhenti, bahkan pada suhu yang terlalu tinggi akan terjadi denaturasi enzim. Berdasarkan daerah suhu, mikroba dapat dibagi menjadi 3 golongan, yaitu mikroba psikrofil (mikroba yang dapat tumbuh pada suhu berkisar 0-30°C); mikroba mesofil (mikroba yang tumbuh pada suhu berkisar 30-60°C) dan mikroba termofil (mikroba yang tumbuh pada suhu berkisar 40-80°C)^[14]. Bakteri *Lactobacillus plantarum* merupakan jenis mikroba mesofil, karena dapat beraktivitas optimum pada suhu berkisar 30-40°C^[11].

3. Kandungan Oksigen

Tersedianya oksigen mempengaruhi jenis mikroba yang dapat tumbuh. Mikroba dapat dibedakan menjadi 3 kelompok yaitu mikroba yang bersifat aerob (membutuhkan oksigen); anaerob (tidak membutuhkan oksigen), dan anaerob fakultatif (dapat hidup pada keadaan ada atau tidak adanya oksigen). *Lactobacillus plantarum* merupakan jenis mikroba anaerob fakultatif^[10].

4. Substrat

Mikroba membutuhkan substrat untuk kehidupannya, yaitu sebagai sumber karbon dan

sumber energi. Pada proses fermentasi, fermentasi atau enzim dapat mengubah substrat menjadi bahan lain dengan mendapat keuntungan berupa energi^[14].

Kalsium Karbonat (CaCO₃)

Untuk mencapai kondisi yang optimum bagi pertumbuhan dan metabolisme bakteri asam laktat, lingkungan, dan keadaan media fermentasi dijaga dengan baik. Suhu optimum berkisar 28-40°C dengan pH dipertahankan berkisar 5-5,8. Kalsium karbonat ditambahkan untuk menjaga derajat keasaman tersebut^[15]. Kalsium karbonat adalah reagen yang umum digunakan untuk menetralkan asam laktat selama fermentasi. Kelarutannya yang rendah di dalam air menyebabkannya dapat menetralkan asam laktat dan mempertahankan pH pada tingkat tertentu secara otomatis. Tellez-Luis dan kawan-kawan melakukan penelitian produksi asam laktat dengan menggunakan *Lactobacillus delbrueckii* dengan menambahkan 90 g/L kalsium karbonat untuk mempertahankan pH selama proses fermentasi^[16].

Pemurnian Asam Laktat

Media hasil fermentasi asam laktat mengandung asam laktat, dan impuritas lainnya seperti asam asetat, etanol, dan lain-lain. Impuritas-impuritas ini, meskipun dalam jumlah kecil, dapat mempengaruhi proses penggunaan asam laktat tersebut. Oleh karena itu, perlu adanya suatu langkah lanjut untuk mendapatkan asam laktat dengan kemurnian tinggi. Ada beberapa metode yang digunakan untuk memurnikan asam laktat, yaitu:

1. Ekstraksi menggunakan pelarut

Proses konvensional pengambilan asam laktat dari media hasil fermentasi dilakukan dengan cara penambahan kapur, sehingga terbentuk endapan kalsium laktat. Endapan ini disaring dan ditambahkan asam sulfat, sehingga terbentuk asam laktat. Proses ini sangat kompleks dan membutuhkan beberapa tahap pemurnian. Ekstraksi menggunakan pelarut dapat memperpendek proses pengambilan asam laktat. Untuk mengekstrak asam laktat digunakan pelarut organik. Berbagai pelarut organik telah dicoba seperti *tri-N-cetylphosphineoxide*^[17], *diisodecylamine tri-N-octyl*, *N-decylamine*, *phosphine oxide*, dan *tri-N-hexylphosphinoxides*^[18].

2. Adsorpsi menggunakan penukar ion

Pengambilan asam laktat dapat juga dilakukan melalui sebuah penukar ion atau yang sering disebut dengan resin. Resin penukar ion merupakan poli elektrolit yang dapat menukar ion-ion yang muatannya sama dengan ion-ion sekelilingnya. Reaksi penukaran ion ini adalah stoikiometri dan reversibel. Ada dua macam resin penukar ion, yaitu penukar positif dan negatif. Resin Amberlite IRA-400 merupakan jenis resin penukar ion negatif dan merupakan resin penukar ion amonium kuarterner yang bersifat basa kuat. Resin ini mempunyai muatan positif dan dapat membentuk ikatan ion dengan ion sulfat, karena pasangan elektron bebas dari atom nitrogen memungkinkan atom nitrogen untuk membentuk ikatan hidrogen dengan ion sulfat. Ion sulfat yang terbentuk dari resin penukar ion amonium kuarterner ini mempunyai sifat basa yang sangat lemah dan dapat mengadsorb asam laktat melalui interaksi asam-basa. Selama proses adsorpsi ini, hanya asam laktat saja yang diadsorb oleh resin, sehingga untuk mengambil kembali asam laktatnya hanya diperlukan pengaliran air melewati resin tersebut. Resin Amberlite IRA-400 memiliki ukuran pori yang tepat dan memberikan kapasitas adsorpsi yang besar. Asam laktat yang dapat diambil dengan menggunakan resin Amberlite IRA-400 adalah 92,11 %^[19].

3. Distilasi Vakum

Pada proses ini, asam laktat hasil fermentasi direaksikan dengan metanol sehingga terbentuk metil laktat. Secara simultan metil laktat ini dihidrolisis menjadi asam laktat dan didistilasi^[7].

4. Pemisahan menggunakan membran

Pemisahan asam laktat dari media hasil fermentasi dengan menggunakan membran merupakan teknik yang paling efisien. Hal ini disebabkan pada teknik ini tidak dibutuhkan alat dan prosedur yang kompleks. Proses ini dikenal dengan membran filtrasi. Membran filtrasi sering digunakan untuk proses kontinyu. Pada prinsipnya, media hasil fermentasi ditampung dalam sebuah tangki untuk menjamin kontinuitas, kemudian dialirkan menuju modul filtrasi untuk memisahkan asam laktat dari campuran lainnya. Filtrasi atau penyaringan berlangsung pada suhu cukup tinggi, sekitar 60°C untuk mempercepat penyaringan. Produk asam laktat selanjutnya dipekatkan sehingga

konsentrasinya 90 %, dikemas dan sebagainya. Sisa larutannya didinginkan dan digabung dengan umpan untuk disaring kembali dalam modul filtrasi^[20]. Berdasarkan penjelasan beberapa metode di atas, pemurnian asam laktat menggunakan resin penukar ion adalah yang paling mungkin dilakukan. Hal ini disebabkan prosedurnya paling sederhana dan resin yang digunakan dapat diregenerasi. Investasi awal yang diperlukan memang agak mahal untuk pembelian resin, tetapi dengan adanya regenerasi resin ini menyebabkan biaya operasi pemurnian asam laktat tidak terlalu besar.

METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini dibagi menjadi 2 tahap. Tahap pertama dilakukan untuk mempelajari pengaruh pH awal fermentasi, konsentrasi substrat, dan waktu fermentasi terhadap perolehan asam laktat, sisa gula reduksi dan jumlah bakteri *Lactobacillus plantarum*. Tahap kedua dilakukan berdasarkan pada kondisi optimum dari tahap pertama ditinjau dari pH awal media, jumlah kulit pisang yang dipakai, dan waktu fermentasi, yang bertujuan untuk mempelajari pengaruh penambahan kalsium karbonat terhadap perolehan asam laktat, pH media fermentasi, glukosa sisa dan jumlah bakteri *Lactobacillus plantarum*.

Penelitian Tahap Pertama

Kulit pisang kepok yang telah dianalisis komposisinya ditimbang sebanyak 600, 800 dan 1500 gr. Masing-masing ditambahkan 1 L akuades kemudian diblender dan disaring. Setelah itu dilakukan pengukuran pH filtrat kulit pisang kepok dan dikondisikan pada pH 3, 4, 5 dan 6. Ke dalam filtrat kulit pisang kepok selanjutnya ditambahkan nutrisi: 0,8% KH₂PO₄, 0,3% MgSO₄, 0,06% ZnSO₄, dan 0,01% Fe₂(SO₄) (dalam % b/v) atau yang disebut media fermentasi. Ke dalam erlenmeyer 100 mL, dimasukkan 100 mL media fermentasi dan 20 mL starter yang sudah diinokulasikan dengan 2 ose bakteri *Lactobacillus plantarum*, kemudian diinkubasi dengan kondisi anaerob pada 35°C selama 23 hari. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan pengamatan jumlah bakteri dengan metode cawan tuang dan diuji kadar glukosa dengan metode Somogyi-Nelson. Media hasil fermentasi yang sudah diberhentikan proses fermentasinya dan disentrifuge, selanjutnya disebut sebagai larutan hasil sentrifuge.

Kemudian dilakukan pemurnian asam laktat dengan mengalirkan 30 mL larutan hasil sentrifuge pada resin Amberlite IRA-400. Resin selanjutnya dibilas dengan 60 mL akuades dan diperoleh larutan asam laktat, kemudian ditentukan kadar asam laktatnya.

Pada penelitian tahap pertama ini digunakan variabel-variabel sebagai berikut:

1. Variabel tetap:

- Jenis kulit pisang yang digunakan yaitu kulit pisang kepok. Dari hasil penelitian pendahuluan, di antara filtrat kulit pisang kepok, filtrat kulit pisang raja, filtrat kulit pisang hijau, dan filtrat kulit pisang susu, yang paling lama teroksidasi adalah filtrat kulit pisang kepok.

- Volume media fermentasi 120 mL pada erlenmeyer 100 mL. Hal ini dilakukan untuk mengkonidisikan media fermentasi pada kondisi anaerob, karena walaupun *Lactobacillus plantarum* dapat hidup pada kondisi aerob dan anaerob, tetapi *Lactobacillus plantarum* cenderung hidup pada kondisi anaerob.

- Suhu fermentasi yang dipakai pada penelitian ini adalah 35°C, sebab suhu tersebut merupakan suhu rata-rata dari suhu optimum *Lactobacillus plantarum* hidup dan berkembang biak.

2. Variabel berubah:

- Waktu fermentasi yang digunakan adalah selama 23 hari. Hal ini dilakukan karena dari pengamatan jumlah bakteri setelah fermentasi, jumlah bakteri terlihat menurun pada hari ke-19 atau ke-20. Untuk memastikan bahwa bakteri sudah tidak beraktifitas lagi, maka fermentasi dilakukan hingga pada hari ke-23.

- pH awal media fermentasi yang dipakai adalah 3, 4, 5, dan 6. Hal ini dilakukan untuk mencari pH optimum bakteri *Lactobacillus plantarum* hidup dan berkembang biak. *Lactobacillus plantarum* hidup pada kondisi pH 4,5 sampai 6,5^[11].

- Jumlah kulit pisang yang dipakai adalah 600, 800, dan 1.500 gr yang diekstrak masing-masing dengan 1 L akuades. Filtrat kulit pisang yang dihasilkan, mengandung glukosa sebanyak 50,99, 69,82, dan 150 gr/L. Pada filtrat kulit pisang terdapat glukosa yang menjadi sumber energi bagi bakteri *Lactobacillus plantarum*. Konsentrasi substrat sebagai sumber energi yang diperlukan oleh bakteri untuk bereproduksi akan mempengaruhi banyaknya asam laktat yang dihasilkan.

Penelitian Tahap Kedua

Berdasarkan hasil penelitian pada tahap pertama bahwa hasil kadar asam laktat tertinggi berada pada kondisi pH awal 5 dan pada penggunaan kulit pisang kepek sebanyak 1.500 gr, maka pada tahap kedua ini dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan kulit pisang kepek sebanyak 1.500 gr dan pada pH awal 5. Kulit pisang kepek ditimbang seberat 1.500 gram dan ditambahkan akuades sebanyak 1 L, kemudian diblender dan disaring. Setelah itu dilakukan pengukuran pH dan kadar glukosa. Kemudian ditambahkan nutrisi seperti pada tahap pertama. Pada media fermentasi ditambahkan CaCO₃ dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu 0, 0,2, dan 0,4%. Selanjutnya dilakukan hal yang sama dengan tahap pertama. Setelah proses fermentasi selesai, dilakukan pengamatan pH media, jumlah bakteri ditentukan dengan metode cawan tuang, dan dilakukan uji kadar glukosa. Kemudian dilakukan pemurnian asam laktat dengan cara yang sama dengan tahap pertama dan ditentukan kadar asam laktatnya. Pada penelitian tahap kedua ini digunakan variabel-variabel sebagai berikut:

1. Variabel tetap:

- Jenis kulit pisang yang digunakan yaitu kulit pisang kepek;
- Volume media fermentasi 120 mL pada erlenmeyer 100 mL;
- Suhu fermentasi = 35°C;
- Jumlah kulit pisang yang dipakai adalah 1.500 gram yang diekstrak dengan 1 L akuades. Filtrat kulit pisang yang dihasilkan mengandung glukosa sebanyak 86,64 gr/L.

2. Variabel berubah:

- Waktu fermentasi yang digunakan adalah selama 23 hari;
- Jumlah CaCO₃ yang ditambahkan ke dalam media fermentasi yaitu 0, 0,2, dan 0,4% (dalam % b/v).

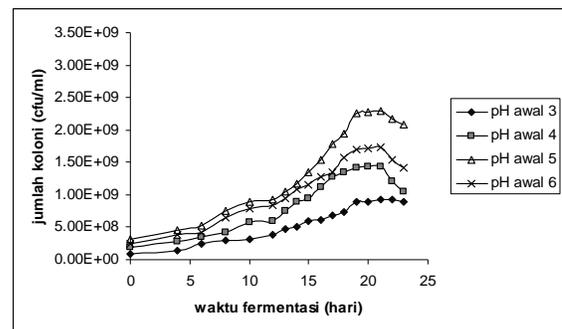
HASIL PERCOBAAN DAN PEMBAHASAN

Pengaruh pH Awal Media, Konsentrasi Substrat dan Waktu Fermentasi Terhadap Jumlah Bakteri

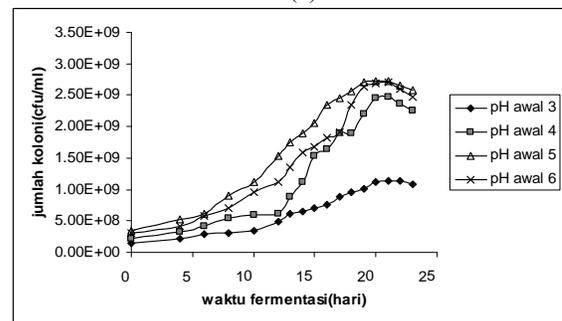
Hasil penelitian hubungan antara waktu fermentasi dengan jumlah bakteri disajikan pada Gambar 1. Pada Gambar 1 terlihat bahwa jumlah bakteri yang terdapat pada media hasil fermentasi semakin meningkat hingga hari

fermentasi ke-20, sedangkan sampai pada hari ke-23 jumlah bakteri konstan.

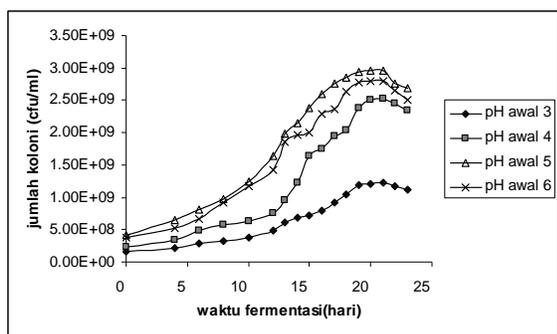
Pertumbuhan bakteri memiliki beberapa tahapan fase yaitu fase *lag*, percepatan, eksponensial, perlambatan, stationer dan fase kematian^[21]. Fase *lag* merupakan fase adaptasi dari bakteri dengan kondisi lingkungan media fermentasi. Pada penelitian ini, fase *lag* ini terdapat ketika pada tahap permulaan. Fungsi starter adalah mempercepat fase adaptasi. Fase percepatan adalah fase pembelahan sel bakteri dengan kecepatan yang rendah. Pada penelitian ini, fase percepatan terdapat selama hari ke-4 sampai hari ke-12. Pada hari ke-13 sampai hari ke-19 bakteri mengalami fase eksponensial, sedangkan pada hari ke-19 sampai ke-21 bakteri mengalami fase perlambatan dan fase stationer. Selama fase eksponensial, pertumbuhan sel berada pada keadaan maksimum. Hal ini berlanjut sampai nutrisi dalam media habis. Pada fase perlambatan, bakteri mengalami perlambatan pertumbuhan. Hal ini disebabkan zat nutrisi yang terdapat pada media sudah sangat berkurang. Dan akhirnya bakteri mengalami fase kematian yang disebabkan sudah tidak adanya nutrisi yang ada dalam media. Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh kondisi pH media. Jika kondisi pH media kurang sesuai, maka bakteri yang hidup juga tidak optimal.



(a)



(b)



(c)

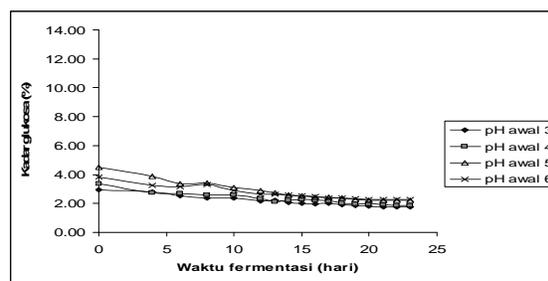
Gambar 1. Hubungan antara waktu fermentasi dengan jumlah koloni bakteri pada berbagai pH awal fermentasi dengan konsentrasi substrat (a) 51mg/L, (b) 70mg/L, dan (c) 75mg/L

Dari Gambar 1 dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri yang paling signifikan terdapat pada pH awal 5. Hal ini menunjukkan bahwa pada pH awal 5 *Lactobacillus plantarum* bertumbuh dan bereproduksi secara optimal. Pada pH awal fermentasi 3, 4, dan 6, jumlah bakteri lebih sedikit daripada jumlah bakteri pada pH awal fermentasi 5. Hal ini menunjukkan bahwa pH 3, 4, dan 6 bukan merupakan pH optimum bakteri *Lactobacillus plantarum*. *Lactobacillus plantarum* hidup pada kisaran pH 4,5-6,5^[11].

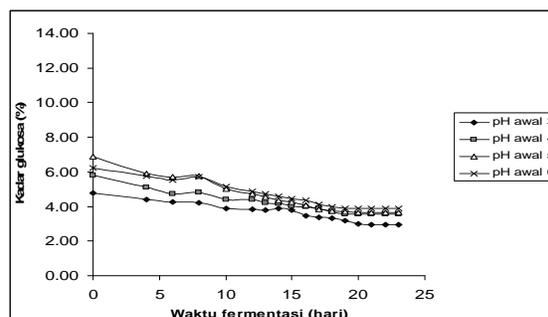
Pengaruh pH Awal Media, Konsentrasi Substrat dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Glukosa Sisa dan Konsumsi Glukosa oleh Bakteri

Kadar glukosa pada media hasil fermentasi berhubungan erat dengan jumlah bakteri yang terdapat dalam media fermentasi. Glukosa yang ada pada media fermentasi akan diubah menjadi asam laktat oleh bakteri. Seiring dengan berjalannya waktu fermentasi, konsumsi glukosa oleh bakteri meningkat, sehingga glukosa yang ada pada media fermentasi akan semakin berkurang. Hal ini tampak pada Gambar 2 dan 3. Pada Gambar 2 terlihat kecenderungan yang sama pada berbagai variasi konsentrasi substrat, yaitu semakin lama waktu, kadar glukosa pada media hasil fermentasi semakin menurun. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya konsumsi glukosa oleh *Bakteri* dari hari ke hari seperti yang disajikan pada Gambar 4 dan 5. Konsumsi glukosa yang dimaksud adalah banyaknya glukosa yang dimanfaatkan oleh bakteri dibandingkan dengan glukosa awal. pH filtrat kulit pisang kepok mula-mula adalah 5, oleh karena itu untuk mengkondisikan pH 4 dan pH 3

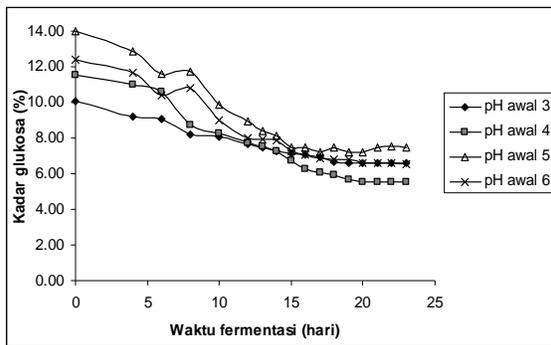
dilakukan dengan penambahan H_2SO_4 1 M beberapa tetes, dan untuk mengkondisikan pH 6, dilakukan dengan penambahan $CaCO_3$. Penambahan H_2SO_4 pada media fermentasi sangat berpengaruh pada kadar glukosa awal, yaitu menurunkan kadar glukosa awal. Hal ini mungkin disebabkan oleh hidrolisis karbohidrat yang berkelanjutan. Hidrolisis karbohidrat dalam proses fermentasi yang umum digunakan adalah hidrolisis dengan larutan asam atau asam pekat atau hidrolisis dengan enzim. Dalam proses hidrolisis dengan larutan asam, biasanya digunakan asam sulfat dengan kadar mulai dari 1 sampai 70%. Pada proses hidrolisis asam ini, dapat terjadi 2 reaksi. Reaksi yang pertama adalah mengubah karbohidrat menjadi gula dan reaksi yang kedua terjadi jika reaksi yang pertama berkelanjutan yaitu perubahan gula menjadi bentuk karbon yang lain^[21]. pH awal media sangat berpengaruh pada pertumbuhan bakteri, sehingga berpengaruh juga pada konsumsi glukosa oleh bakteri dan kadar glukosa sisa yang terdapat pada media hasil fermentasi. Jika kondisi pH tidak sesuai untuk pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*, maka massa glukosa yang dikonsumsi sedikit. Seperti ditunjukkan pada Gambar 5 bahwa pada pH awal 5 konsumsi glukosa oleh *Bakteri* paling banyak daripada pH awal 3, 4, dan 6.



(a)

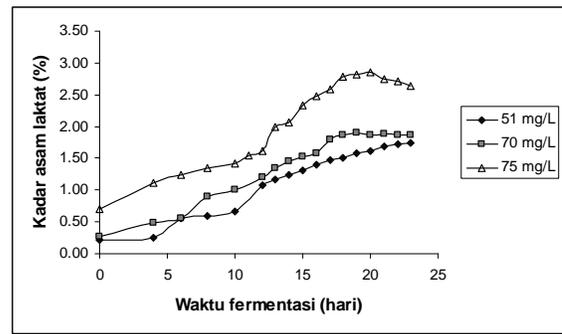


(b)



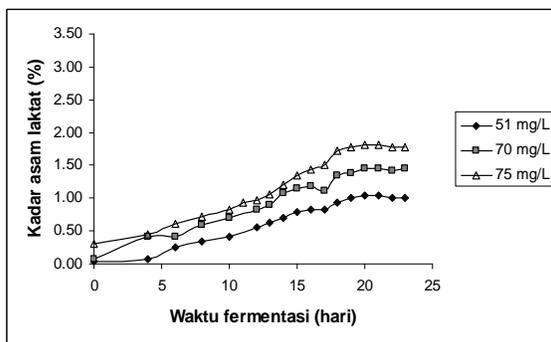
(c)

Gambar 2. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar glukosa pada berbagai pH dengan konsentrasi substrat (a) 50,99 gr/L, (b) 69,82 gr/L, dan (c) 150 gr/L

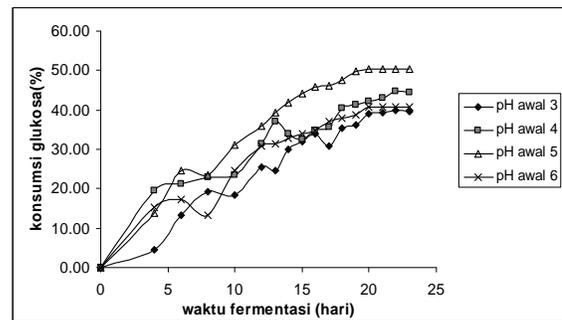


(d)

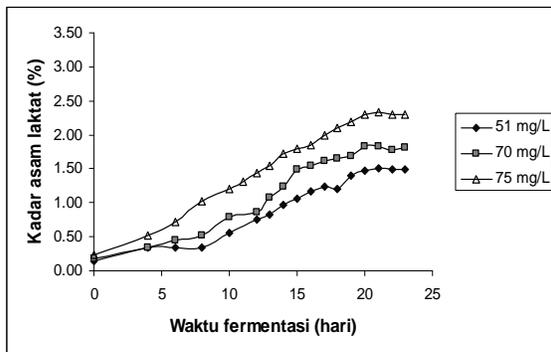
Gambar 3. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar glukosa pada berbagai konsentrasi substrat dengan pH awal (a)3, (b)4, (c)5, dan (d)6



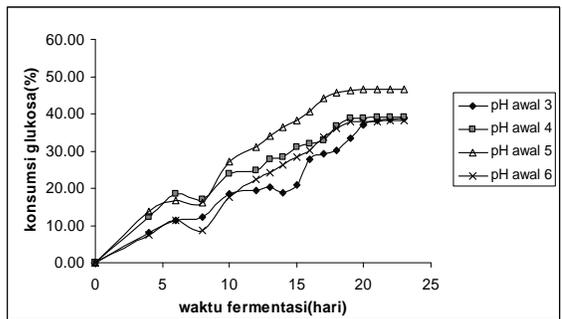
(a)



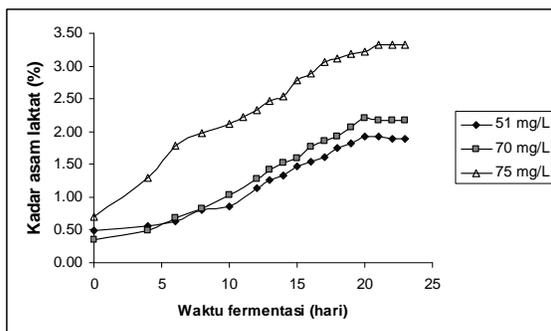
(a)



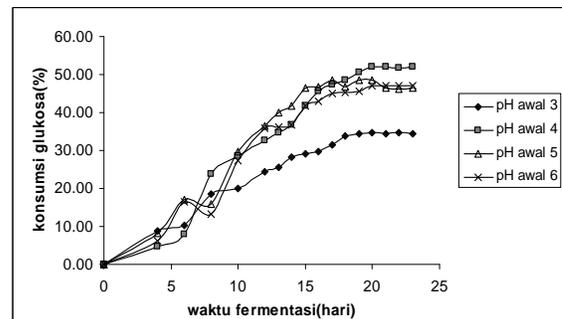
(b)



(b)

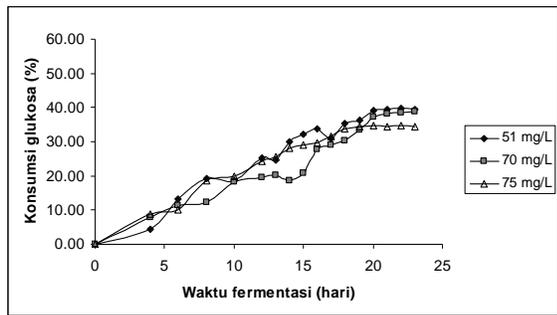


(c)

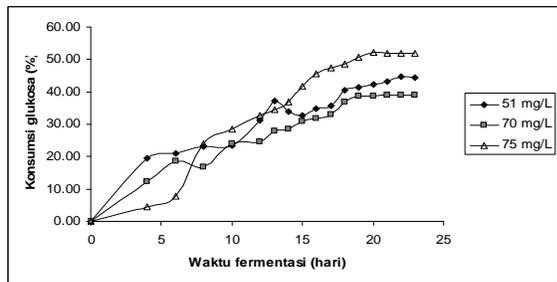


(c)

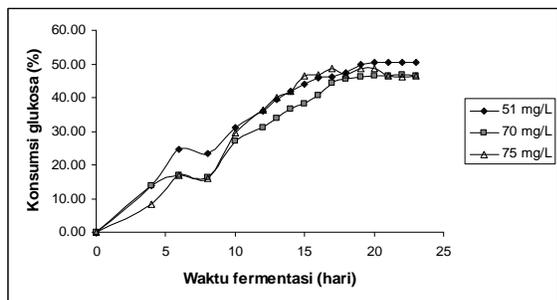
Gambar 4. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap konsumsi glukosa pada berbagai pH dengan konsentrasi substrat (a) 50,99 gr/L, (b) 69,82 gr/L, dan (c) 150 gr/L



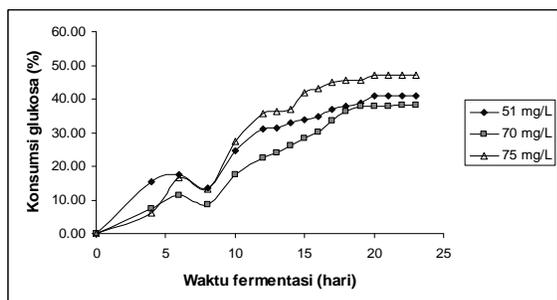
(a)



(b)



(c)



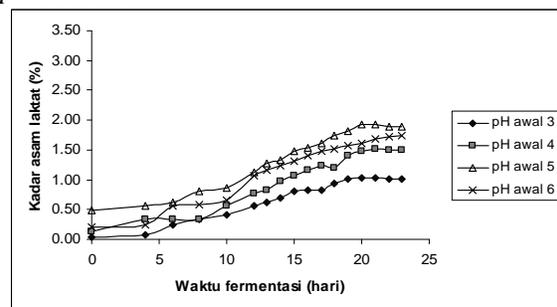
(d)

Gambar 5. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap konsumsi glukosa pada berbagai konsentrasi substrat dengan pH awal (a) 3, (b) 4, (c) 5, dan (d) 6

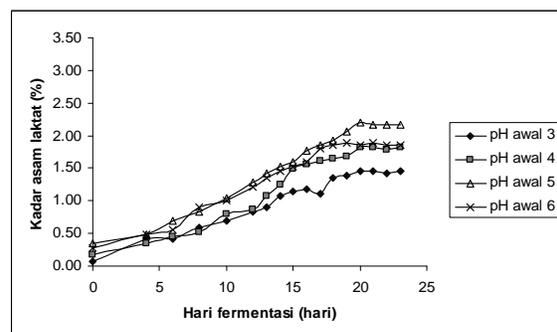
Pengaruh pH Awal Media, Konsentrasi Substrat dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Asam Laktat

Hasil penelitian yang merupakan hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar asam laktat yang diperoleh, disajikan pada Gambar 6, dan 7. Dalam Gambar 6 terlihat

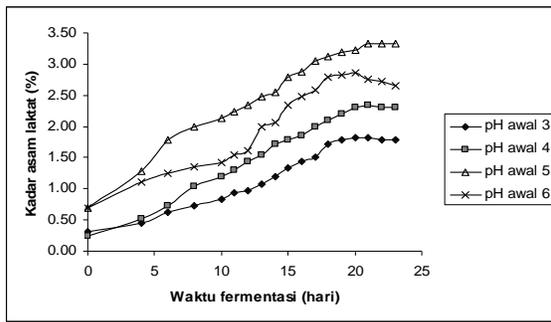
bahwa dari hari ke hari asam laktat yang dihasilkan semakin meningkat sampai hari ke-20. Untuk waktu fermentasi yang lebih lama daripada 20 hari, tidak ada peningkatan perolehan asam laktat. Hal ini disebabkan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi, bakteri *Lactobacillus plantarum* terus bertumbuh dan berkembang biak sehingga enzim laktat dehidrogenase yang dihasilkan semakin bertambah dan semakin banyak pula asam laktat yang dihasilkan. Ketika sumber karbon yang digunakan habis dan *Lactobacillus plantarum* sudah tidak bertumbuh dan berkembang biak lagi, maka enzim yang dihasilkan menurun sehingga tidak dapat memproduksi asam laktat lebih banyak lagi. Untuk mendapatkan kondisi optimum proses fermentasi, dilakukan variasi pH awal fermentasi yaitu pH 3, 4, 5, dan 6. Pada Gambar 6 disajikan juga hasil penelitian yang merupakan hubungan antara pH awal media dengan kadar asam laktat. Pada Gambar 6 terlihat bahwa terjadi kecenderungan yang sama pada setiap variasi konsentrasi substrat yaitu asam laktat yang paling banyak terbentuk pada pH awal 5, diikuti dengan pH awal 6, 4, dan yang paling sedikit pada pH awal 3. Hal ini terjadi karena kondisi pH awal media mempengaruhi pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*.



(a)

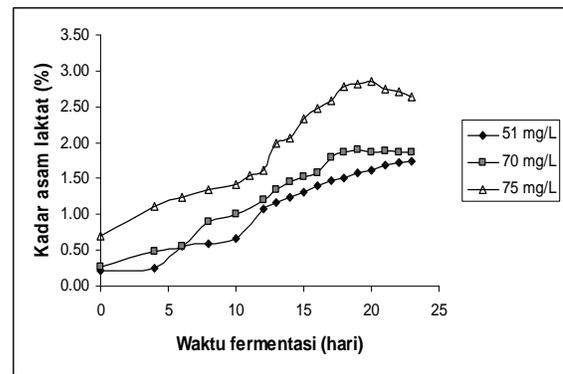


(b)



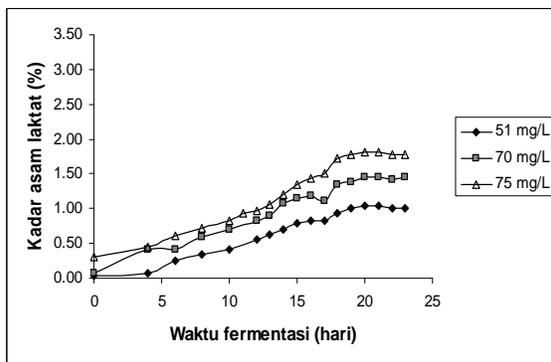
(c)

Gambar 6. Hubungan antara waktu fermentasi dan asam laktat pada berbagai pH awal media dengan dengan pH awal (a) 3, (b) 4, (c) 5, dan (d) 6

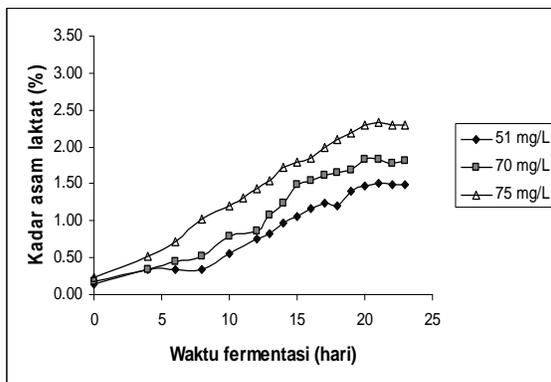


(d)

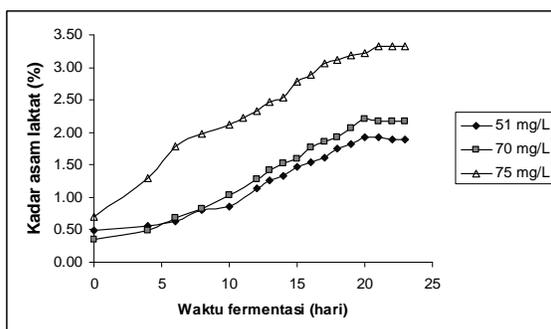
Gambar 7. Hubungan antara waktu fermentasi dan kadar asam laktat pada berbagai konsentrasi substrat konsentrasi substrat (a) 50,99 gr/L, (b) 69,82 gr/L, dan (c) 150 gr/L



(a)



(b)



(c)

Jika kondisi pH tidak sesuai untuk pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*, maka enzim yang dihasilkan juga sedikit. *Lactobacillus plantarum* hidup pada pH 4,5 – 6,5^[11]. Pembentukan produk asam laktat yang dihasilkan oleh mikroba dengan proses fermentasi terjadi pada fase lambat dan fase stationer atau pada saat bakteri berada pada fase pertumbuhan^[21]. Pada proses fermentasi, bakteri *Lactobacillus plantarum* menghasilkan enzim laktat dehidrogenase. Enzim memerlukan kondisi yang optimal untuk aktifitas maksimumnya, salah satu di antaranya adalah pH. Pada Gambar 6 terlihat bahwa terjadi perbedaan jumlah asam laktat yang terbentuk pada setiap pH awal fermentasi. Hal ini disebabkan karena variasi pH media menyebabkan perubahan aktifitas enzim, sehingga mempengaruhi laju reaksi enzimatisnya. Dengan demikian, enzim hanya aktif pada daerah pH tertentu. Jadi, pH media mempengaruhi laju reaksi enzimatis dan stabilitas enzim^[21].

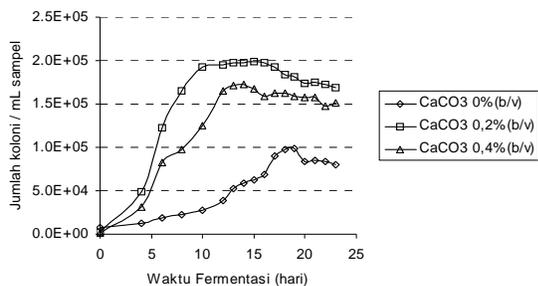
Asam laktat terbanyak diperoleh dari penggunaan konsentrasi substrat 150 gr/L (dihitung sebagai konsentrasi glukosa) yang dihasilkan dari ekstraksi 1.500 gram kulit pisang dengan 1 L air. Pada hasil ekstraksi dari 1.500 gram kulit pisang tersedia lebih banyak karbohidrat daripada hasil ekstraksi 800 gram atau 600 gram kulit pisang yang memiliki konsentrasi substrat 50,99, dan 69,82 gr/L. Hasil penelitian yang merupakan hubungan antara konsentrasi substrat dengan kadar asam laktat disajikan pada Gambar 7. Semakin sedikit

kandungan air pada filtrat kulit pisang, kandungan glukosanya semakin banyak. Melalui rangkaian proses yang panjang, terbentuk asam laktat dari glukosa oleh enzim laktat dehidrogenase, sehingga dengan konsentrasi substrat yang semakin besar, asam laktat yang dihasilkan juga akan lebih banyak.

Pengaruh Penambahan Kalsium Karbonat Terhadap Jumlah Bakteri

Pada proses fermentasi, waktu fermentasi, pH media, dan konsentrasi CaCO_3 sangat berpengaruh terhadap jumlah bakteri yang dihasilkan. Hasil penelitian yang merupakan hubungan antara waktu fermentasi terhadap jumlah bakteri disajikan pada Gambar 8. Dari Gambar 8 terlihat bahwa jumlah bakteri yang terdapat pada media hasil fermentasi semakin meningkat, konstan dan kemudian menurun. Pertumbuhan bakteri memiliki beberapa tahapan fase. Terdapat perbedaan waktu tempuh antara tahapan fase pada konsentrasi CaCO_3 0%, 0,2%, dan 0,4%.

Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh kondisi pH media tempat bakteri tersebut hidup. Dalam hal ini, pH media telah sangat sesuai dengan bakteri, maka akan memacu bakteri untuk mempercepat konsumsi glukosa, sehingga glukosa menjadi cepat berkurang yang menimbulkan pencapaian keadaan maksimum dari pertumbuhan bakteri menjadi lebih cepat.



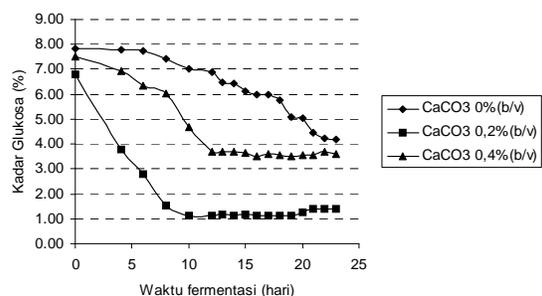
Gambar 8. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap jumlah bakteri pada berbagai konsentrasi CaCO_3 .

Pengaruh Penambahan Kalsium Karbonat Terhadap Kadar Glukosa Sisa

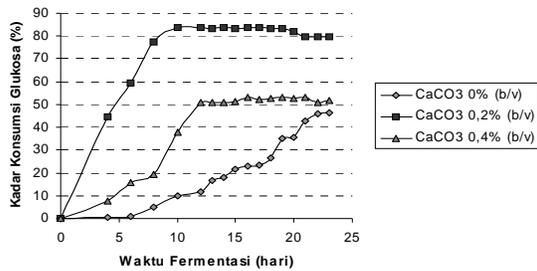
Glukosa yang ada dalam media akan diubah menjadi asam laktat oleh *Lactobacillus plantarum*^[15]. Seiring dengan berjalannya waktu, glukosa yang ada dalam media akan semakin berkurang karena dikonsumsi oleh bakteri. Hal ini tampak pada Gambar 9. Pada Gambar 9 terlihat kecenderungan yang sama pada berbagai

variasi konsentrasi CaCO_3 , yaitu semakin lama hari kadar glukosa dalam media hasil semakin menurun. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya konsumsi glukosa oleh *Lactobacillus plantarum* dari hari ke hari seperti yang disajikan pada Gambar 10. Berhentinya penurunan kadar glukosa dalam media fermentasi, terjadi pada waktu fermentasi yang berbeda untuk setiap konsentrasi CaCO_3 . Hal ini terjadi karena peranan CaCO_3 pada media fermentasi yang mengoptimalkan pertumbuhan bakteri, sehingga mempengaruhi kecepatan konsumsi glukosa pada media. Pada hasil penelitian ini, kadar glukosa yang ada dalam media fermentasi tidak mendekati nol. Hal ini karena terjadinya proses sakarifikasi yang berkaitan dengan proses perubahan pati menjadi glukosa^[3]. Proses ini kemungkinan terjadi pada saat glukosa telah hampir habis dikonsumsi, sehingga terjadi penambahan kadar glukosa.

Didasarkan pada konsentrasi CaCO_3 0% (b/v), bahwa pH media paling drastis berkurangnya dibandingkan dengan konsentrasi CaCO_3 0,2%, dan 0,4%. Sedangkan pada Gambar 10 terlihat bahwa pada konsentrasi CaCO_3 0%, terjadi penurunan kadar glukosa yang paling kecil di antara konsentrasi CaCO_3 0,2%, dan 0,4%. Hal ini terjadi karena pH media mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Pada keadaan tersebut pH media kurang sesuai dengan bakteri, sehingga jika bakteri tidak bertumbuh secara optimal, maka glukosa yang dikonsumsi juga sedikit. Penurunan kadar glukosa yang paling mendekati nol adalah konsentrasi CaCO_3 0,2% (b/v), hal ini terjadi karena pada konsentrasi CaCO_3 0,2 %, pH media telah sangat sesuai dengan bakteri, sehingga memacu bakteri untuk mempercepat konsumsi glukosa sebagai sumber energi utamanya.



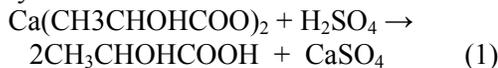
Gambar 9. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar glukosa sisa setelah fermentasi pada berbagai konsentrasi CaCO_3 .



Gambar 10. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap konsumsi glukosa pada berbagai konsentrasi CaCO₃.

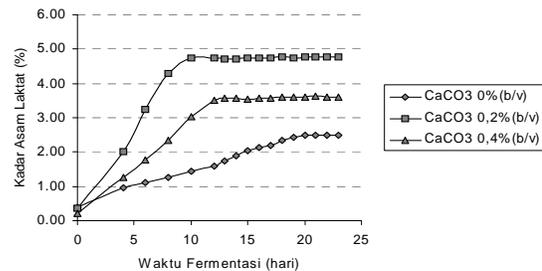
Pengaruh Penambahan Kalsium Karbonat Terhadap Kadar Asam Laktat

Akibat penambahan CaCO₃, maka proses fermentasi akan menghasilkan kalsium laktat. Untuk melepaskan kalsium dari kalsium laktat, maka ditambahkan asam sulfat, sehingga terbentuk kalsium sulfat dan asam laktat. Reaksinya adalah^[15]:



Hasil penelitian yang merupakan hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar asam laktat yang diperoleh, disajikan pada Gambar 11. Dari Gambar 11 terlihat bahwa dengan bertambahnya hari asam laktat yang dihasilkan semakin meningkat, kemudian konstan. Hal ini disebabkan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi, bakteri *Lactobacillus plantarum* terus bertumbuh dan berkembang biak sehingga enzim laktat dehidrogenase yang dihasilkan semakin bertambah dan semakin banyak pula asam laktat yang dihasilkan. Ketika sumber karbon yang digunakan habis dan *Lactobacillus plantarum* sudah tidak bertumbuh dan berkembang biak lagi, maka enzim yang dihasilkan menurun, sehingga tidak dapat memproduksi asam laktat lebih banyak lagi. Untuk mendapatkan kondisi optimum proses fermentasi, dilakukan variasi konsentrasi CaCO₃ yaitu 0, 0,2, dan 0,4% (b/v). Dari Gambar 11 terlihat bahwa kadar asam laktat tertinggi yang dihasilkan yaitu pada konsentrasi CaCO₃ 0,2% (b/v). Hal ini terjadi karena kondisi pH media mempengaruhi pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*. Jika kondisi pH tidak sesuai untuk pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*, maka enzim yang dihasilkan juga sedikit. Pada proses fermentasi, bakteri *Lactobacillus plantarum* menghasilkan enzim laktat dehidrogenase. Enzim memerlukan

kondisi yang optimal untuk aktifitas maksimum mereka, salah satu di antaranya adalah pH. Pada Gambar 11 terlihat bahwa terjadi perbedaan massa asam laktat yang terbentuk pada setiap konsentrasi CaCO₃. Hal ini disebabkan karena variasi konsentrasi CaCO₃ menimbulkan bervariasinya pH media yang kemudian menyebabkan perubahan aktifitas enzim, sehingga mempengaruhi laju reaksinya. Maka enzim hanya aktif pada kisaran pH tertentu^[21]. Jadi, konsentrasi CaCO₃ mempengaruhi laju reaksi maksimum dan stabilitas enzim sehingga kecepatan pembentukan asam laktat berbeda untuk konsentrasi CaCO₃ yang berbeda.



Gambar 11. Hubungan antara waktu fermentasi terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi CaCO₃

KESIMPULAN

pH awal fermentasi, konsentrasi substrat, dan waktu fermentasi berpengaruh terhadap kadar asam laktat, kadar glukosa sisa dan jumlah bakteri yang dihasilkan. Kondisi optimum proses fermentasi filtrat kulit pisang kepok dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* yang didasarkan pada perolehan kadar asam laktat terbesar dicapai pada konsentrasi substrat 75 mg/L, dengan pH awal media fermentasi = 5 dan dengan waktu fermentasi selama 20 hari.

Kondisi optimum proses fermentasi filtrat kulit pisang kepok dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum* yang didasarkan pada perolehan kadar asam laktat terbesar dicapai pada konsentrasi substrat 86,64 g/L, dengan pH awal media fermentasi = 5, konsentrasi CaCO₃ 0,2%, dan dengan waktu fermentasi selama 10 hari

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Ant, D., "BPPT teliti sagu untuk industri Asam Laktat", Teknologi dan Sains, *Gatra.com*, diakses 24 April 2004
- [2] Munadjim, "Teknologi Pengolahan Pisang", hlm. 14, 16, 63, PT Gramedia, Jakarta, 1984

- [3] Anuradha, R., Suresh, A.K., Venkatesh, K.V., "Simultaneous Saccharification and Fermentation of Starch to Lactic Acid", *Process Biochemistry*, Vol 35, hlm.367-375, 1999
- [4] Sunarjono, H., "Berkebun 21 Jenis Tanaman Buah", hlm.66-72, Penebar Swadaya, Depok, 2005
- [5] Poedjiadi, A., "Dasar-Dasar Biokimia", hlm. 247-255, Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press), Jakarta, 1994
- [6] Seppo Salminen, A. W., "Lactic Acid Bacteria", hlm. 4-88, 20-33, 295-296, *Marcel Dekker, Inc.*, New York, 1993
- [7] Narayanan, N., Roychoudhury, P.K., Srivastava, A., "L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization", *Electronic Journal of Biotechnology*, Vol.7, No.2., 2004
- [8] Budiyanto, M.A.K., "Mikrobiologi Terapan", Edisi Pertama, hlm. 45,46,47, *UMM Press.*, Malang, 2002
- [9] Perry, R.H., Don Green, "Perry's Chemical Engineer's Hand Book", Edisi Ketujuh, hlm. 141, *Mc Graw-Hill Book Co.*, Toronto, 1997
- [10] Anonim, "Fermented fruits and vegetables. A global perspective", Chapter 5, FAO Corporate Document Repository, <http://www.fao.org/docrep/x0560e/x0560e10.htm> diakses 24 April 2007
- [11] Pelczar, C., "Dasar-dasar Mikrobiologi 2", hlm. 896, 897, 901, 950, Penerbit UI-Press., Jakarta, 1988
- [12] Gardner, J.N., Savard, T., Obermier, P., Caldwell, G., Champagne, C.P., "Selection and characterization of mixed starter cultures for lactic acid fermentation of carrot, cabbage, beet and onion vegetable mixtures", *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 64, hlm. 261-275.
- [13] Kirk, R.E. dan Othmer, D.F., "Encyclopedia of Chemical Technology", Vol. 6, hlm. 318-319, 322, The Interscience Encyclopedia, Inc., New York, 1951
- [14] Waluyo, L., "Mikrobiologi Umum", hlm. 112, 114,116, 122, 128, 160, *UMM Press.*, Malang, 2005
- [15] Huang, L.P., Jin, B., Lant, P., Zhou, J., "Simultaneous saccharification and fermentation of potato starch wastewater to lactic acid by *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus arrhizus*", *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 23, hlm. 265-276, 2005
- [16] Tellez-Luis,S.J., Moldes, A.B., Vazquez.M., Alonso.J.L., "Evaluation of culture media with corn steep liquor on lactic acid production by *Lactobacillus delbrueckii*", Sess. 46E-16, *Annual Meeting and Food Expo*, Anaheim-California, 2002
- [17] Tong, Y., Hirata, M., Takanashi, H., Hano, T., Kubota, F., Goto, M., Nakashio, F., Matsumoto, M., "Extraction of Lactic Acid From Fermented Broth With Microporous Hollow Fiber Membranes", *Journal of Membrane Science*, Vol. 143, hlm. 81-91, 1998
- [18] Frieling, P., Schügerl, K., "Recovery of lactic acid from aqueous model solutions and fermentation broths", *Process Biochemistry*, Vol. 34, hlm. 685-696, 1999
- [19] Cao, X., Yun, H.S., Koo, Y.M., "Recovery of L-(+)-lactic acid by anion exchange resin Amberlite IRA-400", *Journal of Biochemical Engineering*, Vol. 11, hlm. 189-196, 2002
- [20] Milcent, S., Carrère, H., "Clarification of Lactic Acid Fermentation Broths", *Separation and Purification Technology*, Vol. 22-23, hlm. 393-401, 2001
- [21] Anonim, "Oregon Cellulose-Ethanol Study", Appendix B, 1-3, "http://www.leds.state.or.us/ENERGY/RENEW/Biomass/docs/OCES/OCES_B.F" diakses 8 Juni 2007