

PENGARUH PENAMBAHAN LAKTOSA PADA PRODUKSI ASAM LAKTAT OLEH *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041

Ririn Puspadiwi¹, Wiwiek Indriyati², Lusiana Nurfitrika Dewi¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Cimahi

²Fakultas Farmasi, Universitas Padjajaran, Jl. Raya Bandung Sumendang, Jatinangor
email: ririn.puspadiwi@lecture.unjani.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan produksi asam laktat melalui proses fermentasi menggunakan *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041 sebagai starter sebanyak 10% v/v dari 250 ml medium fermentasi. Produksi dilakukan dengan menyiapkan substrat fermentasi yaitu limbah air kelapa. Substrat dibuat dengan tiga kondisi yang berbeda yaitu substrat I tanpa penambahan laktosa, substrat II dan III ditambahkan laktosa masing-masing sebanyak 25 g dan 45 g. Nutrisi lain yang ditambahkan adalah ammonium hidrogen fosfat 3,125 g, mangan sulfat 0,0326 g, magnesium sulfat 0,00815 g, ferri sulfat 0,00326 g. Fermentasi dilakukan pada suhu 40°C, pH awal 5,5 dengan pengocokan secara berkala. Pengambilan sampel fermentasi dilakukan pada jam ke-7, ke-13, jam ke-14, jam ke-19 dan jam ke-24. Hasil fermentasi diukur jumlah asam laktat dengan titrasi alkalinmetri. Jumlah asam laktat terbanyak diperoleh pada jam ke-24 pada substrat I = $0,728 \pm 0,05$ % b/v, substrat II = $0,806 \pm 0,035$ b/v, substrat III = $0,876 \pm 0,06$ % b/v.

Kata kunci : asam laktat, laktosa, *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, air kelapa.

ABSTRACT

*The research of the production of lactic acid has been carried out through the process of fermentation using *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041 as a starter as much as 10 % v / v than 250 medium ml of fermentation. Production carried out by preparing a substrate fermentation waste water coconut .That of the substrate made with three different conditions namely that of the substrate I without additional lactose , that of the substrate II and III lactose each added as many as 25 g and 45 g. other nutrients added is hydrogen ammonium phosphate 3,125 g , manganese sulphate 0,0326 g , magnesium sulphate 0,00815 g , ferric sulphate 0,00326 done g. fermentation at a temperature of 40°C; starting pH aty 5.5 with periodically shaker .The sample collection fermentation performed on 7th hours , 13th hours , 14th hour, 19th hours and 24th hours .A result of fermentation measured quantity of lactic acid by titration alkalimetri .The number of lactic acid obtained at highest number of hours on the 24th substrat I= $0,728 \pm 0,05$ % b / v , that of the substrate II = $0,806 \pm 0,035$ b / v , that of the substrate III = $0,876 \pm 0,06$ % b / v*

Keywords : lactic acid, lactose, *Lactobacillus bulgaricus* FNCC 0041, coconut water

PENDAHULUAN

Asam laktat banyak digunakan pada makanan, kosmetik, farmasi, dan industri kimia. Beberapa industri telah mencoba mengembangkan suatu bahan poli lactic acid yang mudah didegradasi oleh lingkungan.

(Young-Jung Wee , Jin-Nam Kim dan Hwa-Won Ryu, 2006)

Kebutuhan nutrisi bagi mikroorganisme pada waktu fermentasi sangat dibutuhkan untuk menunjang produk yang akan dihasilkan. Untuk menghasilkan asam laktat salah satu komponen yang harus dipenuhi adalah sumber Karbon yang berasal dari

karbohidrat. Laktosa merupakan karbohidrat yang dapat digunakan untuk produksi asam laktat secara fermentasi (Manfaati, Rintis. 2010).

Pembuatan asam laktat melalui proses fermentasi dapat menggunakan laktosa, glukosa, maltosa dan sukrosa sebagai bahan baku (Silveira, M.S, dkk, 2010).

Jenis mikroorganisme yang menghasilkan asam laktat salah satunya adalah bakteri *Lactobacillus*. Jenis bakteri penghasil asam laktat dapat digolongkan sebagai bakteri homofermentatif asam laktat karena pada proses metabolismenya mampu menghasilkan asam laktat dalam jumlah besar dengan sedikit produk samping (Manfaati, Rintis. 2010).

Lactobacillus bulgaricus termasuk organisme suhu tinggi yang dapat diisolasi dari susu yang berasal dari fermentasi glukosa, galaktosa dan laktosa. Sumber awal bakteri *Lactobacillus bulgaricus* diisolasi dari yoghurt, habitat bakteri *Lactobacillus bulgaricus* terdapat di banyak produk susu yang berada pada suhu tinggi. *Lactobacillus bulgaricus* dapat menunjukkan respon positif terhadap pewarnaan Gram yakni berwarna ungu, mempunyai suhu pertumbuhan optimal pada suhu sekitar 45°C dengan jenis fermentasi homofermentatif sehingga jika glukosa di fermentasikan akan menghasilkan asam laktat sebagai satu-satunya produk (Holt G., John., Krieg R., Noel. 1994)

METODE

Penyiapan starter. *Lactobacillus bulgaricus* yang digunakan sebagai starter dalam proses fermentasi ini diremajakan dalam media MRS Agar (*Mann Rogose and Sharp Agar*) untuk mendapatkan bakteri dalam usia produktif. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* dilakukan dalam media MRS Broth (*Mann Rogose and Sharp Broth*) dengan cara mensuspensikan *Lactobacillus bulgaricus* ke dalam media. Pembuatan kurva pertumbuhan *Lactobacillus bulgaricus* dilakukan selama 35 jam pada suhu 40°C dengan pengocokan yang dilakukan beberapa kali dalam selang waktu satu jam. Pertumbuhan bakteri diukur berdasarkan kekeruhan media pada panjang gelombang 580 nm. Hasil pengukuran yang

didapat dengan waktu akan menghasilkan kurva pertumbuhan bakteri (Febriningrum, P. N. 2013).

Penyiapan substrat dan nutrisi.

Substrat cair fermentasi berupa limbah air kelapa yang akan digunakan dilakukan proses pasteurisasi untuk menghilangkan mikroba yang dapat mengganggu fermentasi. Proses pembuatan asam laktat dilakukan dengan cara mensuspensikan bakteri ke dalam substrat cair limbah air kelapa yang ditambahkan beberapa tambahan nutrisi. Substrat dibuat dengan tiga kondisi yang berbeda yaitu substrat I tanpa penambahan laktosa, substrat II dan III ditambahkan laktosa masing-masing sebanyak 25 g dan 45 g. Nutrisi lain yang ditambahkan adalah ammonium hidrogen fosfat 3,125 g, mangan sulfat 0,0326 g, magnesium sulfat 0,00815 g, ferri sulfat 0,00326 g. Pengamatan terhadap asam laktat dari hasil fermentasi dilakukan pada awal fase log yaitu jam ke 7, fase log yaitu jam ke 13, awal fase stasioner yaitu jam ke 14, fase stasioner yaitu jam 19 dan pada akhir fase stasioner jam ke 24 pertumbuhan bakteri. Hasil metabolit yang berasal dari beberapa fase pertumbuhan bakteri tersebut, di sentrifugasi untuk memisahkan biomassa dan supernatan, lalu supernatan di analisis secara kualitatif dan kuantitatif, serta pengukuran pH dan bobot jenis (Febriningrum, P. N. 2013).

Analisis kualitatif asam laktat. Pengujian adanya asam laktat dari hasil fermentasi dilakukan dengan :

- i) larutan sampel direaksikan dengan asam sulfat encer dan larutan kalium permanganat dan dipanaskan, akan terjadi asetaldeida, yang dapat dikenal dari baunya.
- ii) Larutan sampel ditambahkan dengan besi(III)klorida, sampel akan menghasilkan larutan berwarna kuning.
- iii) Larutan sampel ditambahkan dengan larutan iodium dan natrium hidroksida, maka akan menghasilkan larutan berwarna kuning jika mengandung asam laktat.
- iv) larutan sampel diambil 5 mL, ditambahkan air brom sebanyak 1 mL dan 0,5 mL asam sulfat encer. Campuran

dipanaskan pada penangas air sampai warna hilang dan diaduk sesekali menggunakan batang pengaduk. kemudian ditambahkan 4 gram ammonium sulfat dan diaduk hingga larut. Campuran diteteskan natrium nitroprusida tanpa diaduk sebanyak 0,2 mL, kemudian masih tanpa pengadukan, ditambahkan amonia pekat sebanyak 1 mL, setelah itu didiamkan selama 30 menit. Hasil positif adanya asam laktat ditandai dengan munculnya cincin hijau toska (Department of Health, Social Service and Public Safety, 2010).

Analisis kuantitatif asam laktat.

Dilakukan dengan metode titrasi alkalinmetri yaitu sampel uji yang bersifat asam lemah dititrasi oleh NaOH dengan indikator fenolftalein. Titik akhir titrasi ditandai dengan perubahan warna pada sampel yaitu merah muda (Monilola, W.S., dkk., 2013)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran pH (Tabel 1) dari produk fermentasi diperoleh pada substrat I tanpa penambahan laktosa menghasilkan pH yang lebih tinggi dibanding pada substrat II dan III yang ditambahkan laktosa. Laktosa merupakan substrat alami bakteri *Lactobacillus bulgaricus* sehingga pertumbuhannya lebih cepat.

Tabel 1. Hasil pengukuran pH

Produk Fermen- tasi jam ke-	Substrat		
	I	II	III
7	5,12±0,01	4,58±0	4,56±0,01
13	5,09±0,01	4,57±0,01	4,54±0,01
14	5,05±0,01	4,56±0,01	4,53±0
19	5,06±0,01	4,56±0,01	4,52±0,01
24	5,04±0	4,53±0	4,51±0,01

Pengukuran bobot jenis dari hasil fermentasi dapat dilihat pada tabel 2. Pada susbtrat I tanpa penambahan laktosa diperoleh bobot jenis lebih kecil dibandingkan dengan substrat II dan III.

Tabel 2. Hasil pengukuran bobot jenis

Produk Fermen- tasi jam ke-	Substrat		
	I	II	III
7	0,2±0,01	0,34±0,01	0,46±0,01
13	0,20±0	0,36±0,01	0,47±0,01
14	0,21±0,01	0,36±0,01	0,49±0,03
19	0,22±0,01	0,37±0,01	0,51±0,03
24	0,275±0,01	0,4±0	0,54±0,01

Secara kualitatif pengujian yang dilakukan terhadap produk fermentasi menunjukkan hasil positif adanya asam laktat.

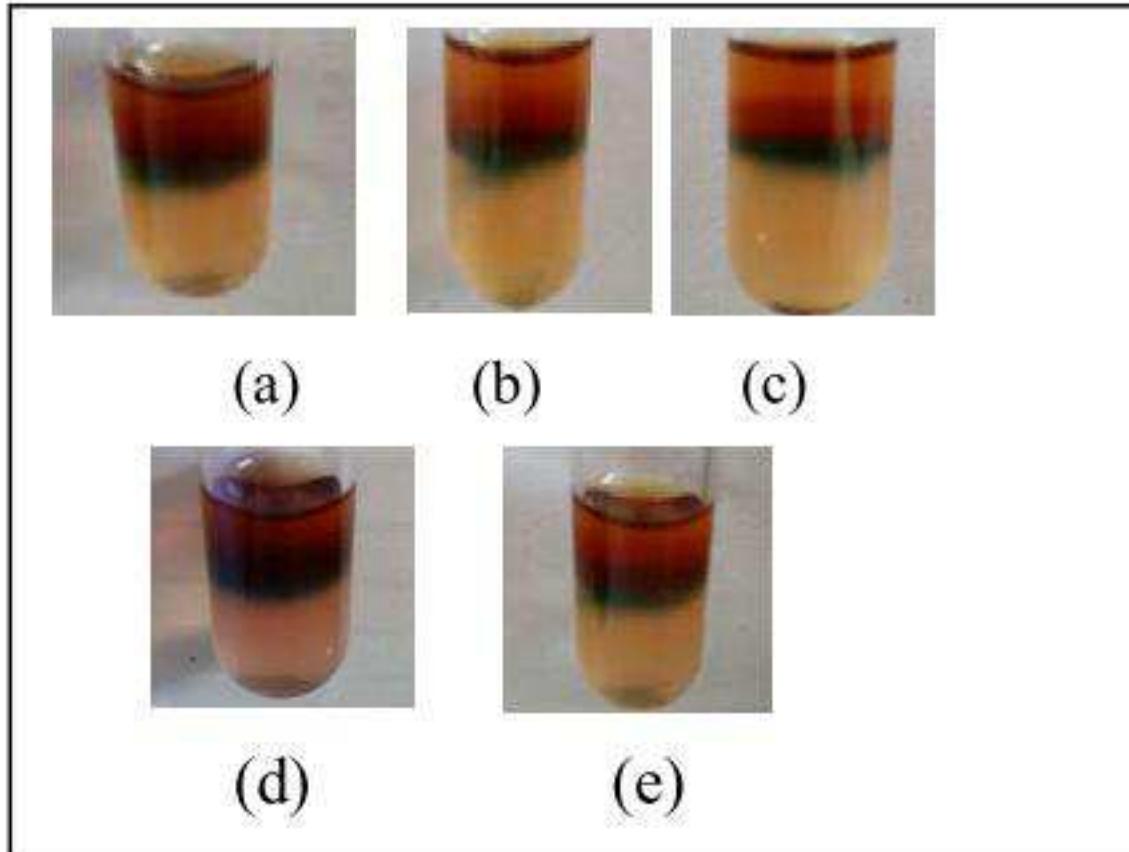
Pengujian berdasarkan reaksi yang menghasilkan bau khas asetaldehida. Pengujian berdasarkan reaksi yang akan memberikan hasil berwarna kuning. Pengujian berdasarkan reaksi warna dengan ditandai terbentuknya warna cincin hijau toska.

Hasil kualitatif hasil reaksi dapat dilihat pada tabel 3-5 dan terbentuknya cinin toska dapat dilihat pada gambar 1-3.

Tabel 3. Hasil kualitatif produk fermentasi substrat I

Produk Fermen- tasi jam ke-	Hasil pengujian	
	Bau	Warna hasil reaksi
7	+	kuning
13	+	kuning
14	+	kuning
19	+	kuning
24	+	kuning

Tabel 5. Hasil kualitatif produk fermentasi substrat III

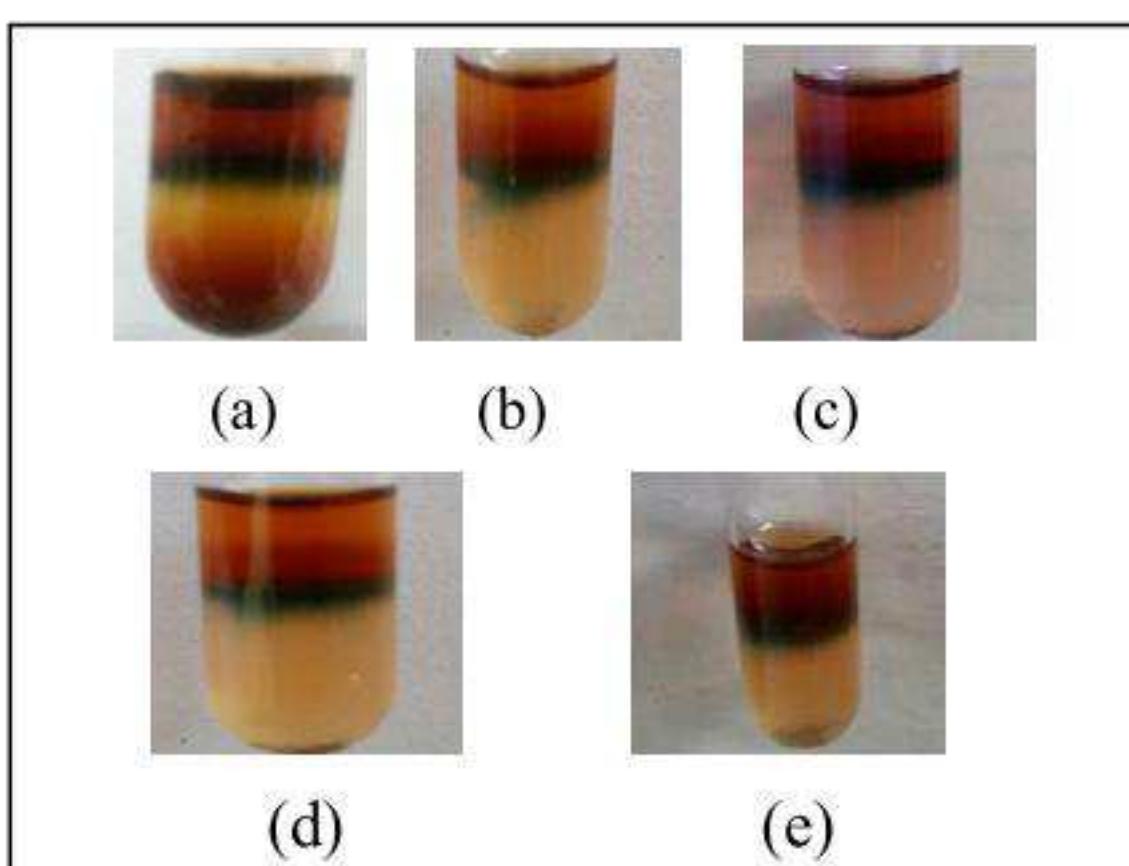


Gambar 1. Pembentukan cincin toska pada produk fermentasi susbstrat I pada jam ke- (a) 7; (b) 13; (c) 14; (d) 19; (e) 24

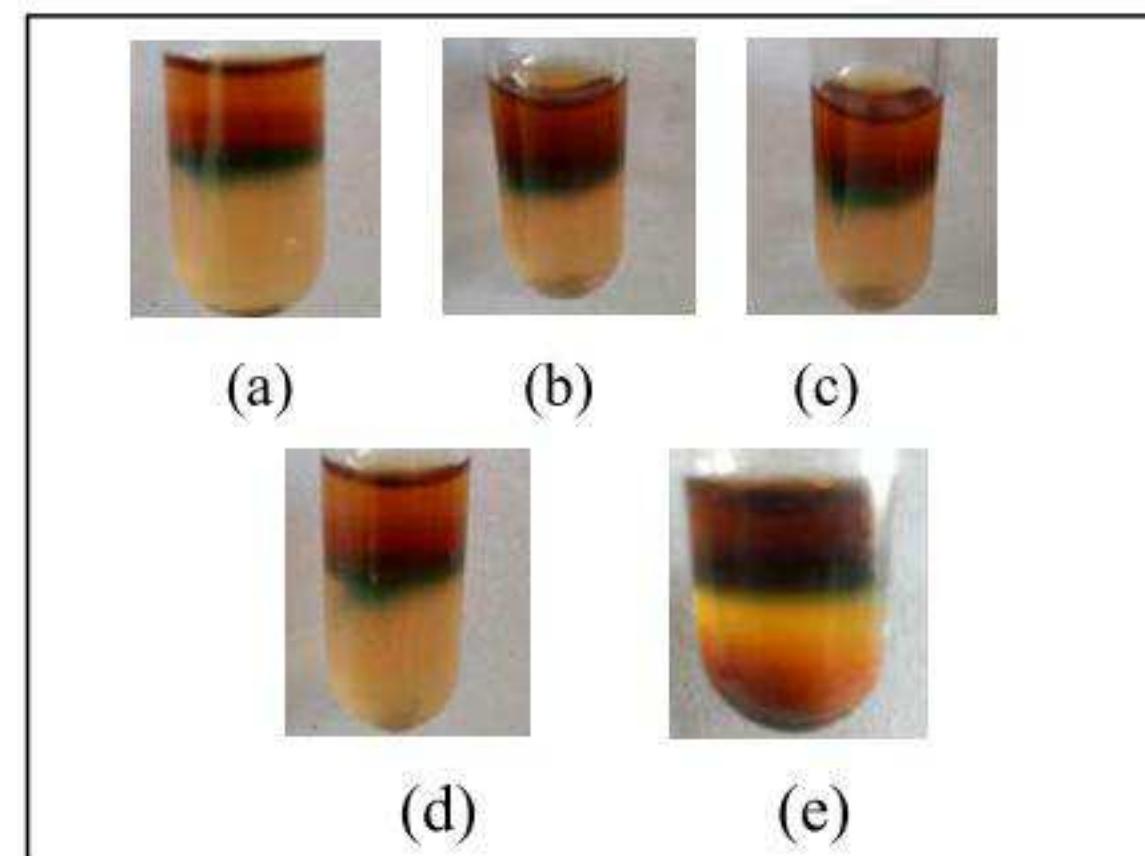
Produk Fermen- tasi jam ke-	Hasil pengujian	
	Bau Asetaldehida	Warna hasil reaksi
7	+	kuning
13	+	kuning
14	+	kuning
19	+	kuning
24	+	kuning

Tabel 4. Hasil kualitatif produk fermentasi substrat II

Produk Fermen- tasi jam ke-	Hasil pengujian	
	Bau Asetaldehida	Warna hasil reaksi
7	+	kuning
13	+	kuning
14	+	kuning
19	+	kuning
24	+	kuning



Gambar 2. Pembentukan cincin toska pada produk fermentasi susbstrat II pada jam ke- (a) 7; (b) 13; (c) 14; (d) 19; (e) 24



Gambar 3. Pembentukan cincin toska pada produk fermentasi susbstrat III pada jam ke- (a) 7; (b) 13; (c) 14; (d) 19; (e) 24

Pengukuran jumlah asam laktat yang terbentuk dari proses fermentasi pada ketiga perlakuan menunjukkan perbedaan. Substrat II mempunyai kadar asam laktat yang lebih tinggi dari subsbtrat I, sedangkan substrat III mempunyai kadar asam laktat yang lebih tinggi dari kedua perlakuan tersebut. Substrat III menghasilkan kadar asam laktat tertinggi karena substrat yang mengandung laktosa yang lebih banyak dibanding substrat I dan II. Laktosa merupakan substrat alami *Lactobacillus bulgaricus*, bakteri ini mempunyai enzim laktase yang biasa digunakan untuk memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa selanjutnya glukosa digunakan dalam fermentasi asam laktat untuk menghasilkan produk berupa asam laktat dan energi. Pada subsbtrat I yang ditambahkan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* kemudian diinkubasi tanpa penambahan laktosa dihasilkan kadar asam laktat yang rendah juga

pertumbuhan bakteri *Lactobacillus bulgaricus* yang lebih lambat dibandingkan substrat II dan substrat III. Bakteri *Lactobacillus bulgaricus* tersebut harus beradaptasi terlebih dahulu dan memerlukan energi yang lebih banyak dalam menguraikan karbohidrat yang terdapat pada substrat menjadi glukosa, yang nantinya akan digunakan dalam fermentasi asam laktat, sehingga untuk menghasilkan asam laktat membutuhkan waktu yang lebih lama jika dibandingkan dengan perlakuan dengan penambahan laktosa (Machmud, Nur Afni. Dkk, 2013). Hasil pengukuran kadar dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Kadar asam laktat (%b/v)

Produk Fermen- tasi jam ke-	Substrat		
	I	II	III
7	0,524±0,05	0,54±0,03	0,642±0,04
13	0,626±0,02	0,673±0,02	0,681±0,05
14	0,673±0,04	0,712±0,01	0,759±0,05
19	0,705±0,04	0,767±0,02	0,791±0,07
24	0,728±0,05	0,806±0,03	0,876±0,06

KESIMPULAN

Jumlah asam laktat terbanyak diperoleh pada jam ke-24 pada substrat I = 0,728±0,05 % b/v, substrat II = 0,806±0,035 b/v, substrat III = 0,876±0,06 % b/v.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Bapak H. Aep Sapari dan Ibu Hj. Nani Hernaliya atas bantuan yang diberikan selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Febriningrum, P. N. 2013: Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Nanas dan Kecepatan Pengadukan terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* untuk Produksi Asam Laktat. Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan. Volume 9, No. 3, Hal. 144-151.

Department of Health, Social Service and Public Safety, 2010: *British Pharmacopoeia 2011 Volume V*. London: British Pharmacopoeia Commission, Appendix VI A24.

Holt G., John., Krieg R., Noel. 1994: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, Ninth Edition: Williams & Wilkins, United States of America, Hal. 543-547

Machmud, Nur Afni. Dkk, 2013: Aktivitas *Lactobacillus bulgaricus* pada Fermentasi susu jagung (*Zea mays*) dengan penambahan sukrosa dan laktosa. ejurnal.ung.ac.id Vol 07, No.02, Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Gorontalo

Manfaati, Rintis. 2010 : Kinetika dan Variabel Optimum Fermentasi Asam Laktat Dengan Media Campuran Tepung Tapioka dan Limbah Cair Tahu Oleh Rhizopus Oryza. Program Magister Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang.

Monilola, W.S.,dkk. 2013: Production Of Lactic Acid From Starchy – Based Food Substrates.Journal of Applied Biosciences.; 71:5673-5681.

Qualitative characteristics of *Lactobacillus bulgaricus* and methods of its quantitative determination. Dari: <http://www.daflorn.com/en/downloads/Lactobacillus-bulgaricus-methods-quantitative-determination.pdf>.

Silveira, M.S, Claudia, P.M.I, Fontes, Alexandre A, Guilherme, Fabiano, A.N, Fernandes, Sueli Rodrigues, 2010: Food Bioprocess Technol, Vol 5, pp. 947-953.

Young-Jung Wee1, Jin-Nam Kim dan Hwa Won Ryu, 2006: Biotechnological Production of Lactic Acid and Its Recent Applications, Republic of Korea, School of Biological Sciences and Technology, Chonnam National University Gwangju, Korea.