



Terakreditasi: SK No.: 66b/DIKTI/Kep/2011
Terakreditasi: SK No.: 60/E/KPT/2016
Website : <http://ejournal.undip.ac.id/index.php/reaktor/>

Reaktor, Vol. 16 No. 3, September Tahun 2016, Hal. 123-127

Pre-treatment dan Fermentasi Hidrolisat Kulit Buah Kakao menjadi Asam Laktat menggunakan *Lactobacillus Plantarum*

Dodi Irwanto^{1,2,*}, Wiratni²), Rochmadi²), dan Siti Syamsiah²)

¹Balai Besar Kulit, Karet dan Plastik, Kementerian Perindustrian RI
Jl. Sokonandi No. 9 Yogyakarta 55166, Indonesia
Telp./Fax. (0274)563655/(0274)563655

²Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Gadjah Mada
Jl. Grafika No. 2 Yogyakarta 55281, Indonesia
Telp./Fax. (0274)631176/(0274)631176

*Penulis korespondensi: dodiirwanto@yahoo.co.id

Abstract

COCOA POD HUSK PRE-TREATMENT AND HYDROLYZATE FERMENTATION INTO LACTIC ACID USING *LACTOBACILLUS PLANTARUM*. *Lactic acid is a raw material that is widely used in food industry as preservatives in meat, vegetables or canned fish. In the pharmaceutical industry is used as raw material for the manufacture of drugs. Lactic acid can be made from natural materials such as lignocellulosic waste one of them is cocoa shell waste. Indonesia is number three cocoa-producing country in the world. 70% cacao fruit components such as pod husk are composed of cellulose, hemicellulose and lignin, so it has the potential to be converted into lactic acid. In this study been the conventional method to determine the overall process in order to know what parts need to be further developed to become a method more effective and efficient. The conventional method is done through several processes, namely the delignification, hydrolysis and fermentation using microorganisms. This study aims to determine the extent of the potential for cocoa pod husk waste to be converted into lactic acid. The results showed that the pod husks delignification with sodium hydroxide solution reaches optimum at a concentration of 6% which results in lower levels of lignin from 30.46 to 24.64%. The process of acid hydrolysis of the pod husks achieve optimum conditions at a concentration of 2.0%, a temperature of 120°C and a 30 minute production of glucose at 32 g/L. Glucose is the result of acid hydrolysis produces lactic acid by 13.268 g/L.*

Keywords: *lactic acid; delignification; fermentation; hydrolysis; cocoa pod husks*

Abstrak

Asam laktat adalah salah satu bahan baku yang banyak dimanfaatkan pada industri makanan sebagai bahan pengawet daging, sayuran atau ikan kalengan. Dalam industri farmasi digunakan sebagai bahan baku pembuatan obat-obatan. Asam laktat dapat dibuat dari bahan alam berupa limbah lignoselulosa yang salah satunya adalah limbah kulit kakao. Indonesia merupakan negara penghasil kakao nomor tiga di dunia. Komponen buah kakao 70% berupa kulit buah yang terdiri dari selulosa, hemiselulosa dan lignin, sehingga berpotensi untuk dikonversi menjadi asam laktat. Pada penelitian ini dipilih metode konvensional untuk mengetahui proses secara keseluruhan sehingga diketahui bagian mana yang perlu dikembangkan lebih lanjut untuk menjadi metode yang lebih efektif dan efisien. Metode konvensional dilakukan melalui beberapa proses, yakni delignifikasi, hidrolisis, dan fermentasi

menggunakan mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana potensi limbah kulit buah kakao untuk dikonversi menjadi asam laktat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa delignifikasi kulit buah kakao dengan larutan sodium hidroksida mencapai kondisi optimum pada konsentrasi 6% yang menyebabkan penurunan kadar lignin dari 30,46 menjadi 24,64%. Proses hidrolisis asam terhadap kulit buah kakao terdelignifikasi mencapai kondisi optimum pada konsentrasi 2,0%, suhu 120°C dan waktu 30 menit yang menghasilkan glukosa sebesar 32 g/L. Glukosa hasil hidrolisis asam menghasilkan asam laktat sebesar 13,268 g/L.

Kata kunci: asam laktat; delignifikasi; fermentasi; hidrolisis; kulit buah kakao

How to Cite This Article: Irwanto, D., Wiratni, Rochmadi, dan Syamsiah, S., (2016), Pre-Treatment dan Fermentasi Hidrolisat Kulit Buah Kakao menjadi Asam Laktat menggunakan *Lactobacillus plantarum*, Reaktor, 16(3), 123-127, <http://dx.doi.org/10.14710/reaktor.16.3.123-127>.

PENDAHULUAN

Asam laktat (*2-hydroxypropanoic acid*, CH₃CH(OH)COOH) merupakan asam organik alami yang digunakan dalam makanan dan makanan non-industri, termasuk kosmetik dan industri farmasi (Oshiro dkk., 2009; Singhvi dkk., 2010; Tashiro dkk., 2011). Kulit buah kakao (*Cocoa pod husk*, CPH) adalah hasil samping dari adanya perkebunan kakao yang menjadi salah satu komoditi yang ditanam luas di Indonesia. CPH kemudian dianggap sebagai limbah yang belum dimanfaatkan secara optimal (Alemawor dkk., 2009). CPH merupakan bagian terbesar dari komponen buah kakao karena mempunyai berat 70-75% dari buahnya (Cruz dkk., 2012). CPH menjadi salah satu biomassa dengan kandungan lignoselulosa yang tinggi yakni mengandung selulosa, hemiselulosa dan lignin masing-masing sebesar 35,4, 37,0 dan 14,7% (Daud dkk., 2013). Lignoselulosa dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku alternatif dalam pembuatan asam laktat dengan metode fermentasi. Salah satu keunggulan metode fermentasi adalah asam laktat yang dihasilkan bisa diatur hanya terdiri dari satu enantiomer berdasarkan bakteri yang digunakan (Hofvendahl dan Hahn-Hägerdal, 2000). Metoda homofermentatif dipilih karena hanya menghasilkan asam laktat, atau menghasilkan produk samping dengan jumlah yang sangat kecil. Metoda homofermentatif ini banyak digunakan di industri, dengan konversi yield glukosa menjadi asam laktat lebih dari 90% (Hofvendahl dan Hahn-Hägerdal, 2000). *Lactobacillus plantarum* yang merupakan golongan *homofermentative lactic acid bacteria* dipilih karena mudah diperoleh dan harganya relatif murah.

Beberapa penelitian tentang CPH diantaranya digunakan sebagai bahan pembuatan bioetanol (Pratiwi dkk., 2010), bahan pembuatan karbon aktif (Cruz dkk., 2012), pakan ternak (Puastuti dan Susanna, 2014), bahan baku pembuatan *Carboxymethyl Cellulose (CMC)* (Nisa dan Putri, 2014) dan bahan baku produk pangan (Wijaya, 2014). Penelitian tentang asam laktat dengan bahan lignoselulosa yang telah dilakukan yakni fermentasi terhadap tepung jagung yang menghasilkan asam laktat 2,02% (Indrarti dkk., 2005) dan singkong dengan kadar asam laktat 0,895% (Pratama dkk., 2013), ampas tebu dengan bakteri *Lactobacillus delbreuckii* yang menghasilkan 67,0 g/L asam laktat (Adsul dkk., 2007) maupun limbah tongkol jagung

menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* dengan kadar asam laktat 73,2 g/L (Okano dkk., 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sejauh mana potensi limbah CPH untuk dikonversi menjadi asam laktat.

METODE PENELITIAN

Bahan

Kulit buah kakao yang digunakan pada penelitian ini berjenis *Trinitario*, yang berasal dari Kabupaten Kulonprogo, DIY. Isolat *Lactobacillus plantarum* dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM dan ditumbuhkan pada media MRS, bahan mikrobiologi dari *Oxoid* seperti: *De Man Rogosa and Sharpe (MRS)*, *Sorbitan mono-oleate*, *Peptone*, *Lab-Lemco powder* dan *Yeast extract*. Bahan kimia *grade p.a.* dari *E. Merck* antara lain: NaOH, H₂SO₄, D-glukosa, CH₃COONa.3H₂O, MgSO₄.7H₂O, MnSO₄.4H₂O, K₂HPO₄, C₆H₁₇N₃O₇, C₂H₂O₄, Indikator *phenolphthalein*, dan Buffer asetat pH 5.

Delignifikasi

CPH yang telah dibuat menjadi tepung kemudian dilarutkan ke dalam sodium hidroksida 2, 4, 6, 8 dan 10% (b/v) dengan perbandingan CPH terhadap larutan adalah 1:15. Proses delignifikasi dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar, endapan yang didapat kemudian dinetralkan menggunakan akuades, dan dikeringkan. Hasil delignifikasi dianalisa kadar selulosa, hemiselulosa, lignin.

Hidrolisis

Tepung CPH hasil delignifikasi dilarutkan ke dalam larutan asam sulfat 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5% (v/v) pada perbandingan CPH terhadap larutan 1:10. Proses hidrolisis dilakukan di dalam *autoclave* 120°C selama 30 menit. Hasil hidrolisis dianalisa kadar glukosa.

Media Fermentasi

Sebanyak 50 mL hidrolisat dinetralkan dengan sodium hidroksida 0,1 N hingga mencapai pH 5. Nutrisi yang ditambahkan berupa 4 g/L *yeast extract*, 10 g/L *peptone*, 8 g/L *lab-lemco powder*, 5 g/L C₂H₃NaO₂, 1ml/L *tween 80*, 2 g/L K₂HPO₄, 2 g/L C₆H₁₇N₃O₇, 0,2 g/L MgSO₄ dan 0,05 g/L MnSO₄. Larutan

dihomogenisasi dan disterilkan menggunakan autoclave 120°C selama 15 menit.

Pembuatan Inokulum

Inokulum dibuat dari isolat bakteri *Lactobacillus plantarum* dalam media MRS kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Fermentasi Asam Laktat

Media produksi kemudian diinjeksi dengan inokulum sebanyak 0,5 mL. Proses fermentasi menggunakan incubator shaker dengan agitasi 200 rpm pada suhu 37°C selama 48 jam pada pH 5. Variasi waktu fermentasi dilakukan tiap 12 jam selama 48 jam. Hasil fermentasi dianalisa total asam laktat dan kadar glukosa.

Metode Analisis

Komposisi CPH yang dianalisa adalah selulosa, hemiselulosa, dan lignin dengan menggunakan metode Chesson (Datta, 1981) dengan sedikit modifikasi (Isroi, 2013). CPH yang telah dibuat tepung dilakukan uji morfologi menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM) JEOL JED-2300 dengan pembesaran 5000 kali. Kadar glukosa dianalisa dengan metode asam sulfat-UV menggunakan Spektrofotometer UV-Vis UV-1601 Shimadzu pada panjang gelombang 315nm (Albalasmeh dkk., 2013). Asam laktat dianalisa dengan metode titrasi asidi-alkalimetri. Total asam laktat dihitung dengan menggunakan Persamaan (1).

$$\% \text{ total asam laktat (b/v)} = \frac{V_1 \times M \times BM}{V_2 \times 1000} \times 100 \quad (1)$$

dengan,

V₁ = volume NaOH (mL)

V₂ = volume filtrat (mL)

M = molaritas NaOH (M)

BM = berat molekul

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi CPH

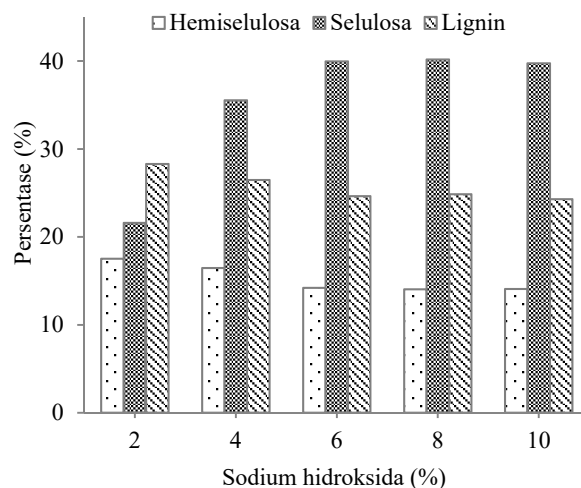
Komposisi CPH jenis *Trinitario* disajikan pada Tabel 1. CPH mengandung selulosa yang dapat diuraikan menjadi glukosa. Hemiselulosa lebih mudah diuraikan daripada selulosa. CPH yang digunakan pada penelitian ini mengandung lignin cukup tinggi. Lignin dapat mengganggu proses fermentasi karena mempunyai karakter yang cukup tahan terhadap degradasi kimia dan biologi. Sehingga lignin harus dihilangkan agar fermentasi dapat berjalan sempurna.

Tabel 1. Komposisi CPH jenis *Trinitario*

Komponen	Komposisi (%w/w)
Hemiselulosa	23,36
Selulosa	24,51
Lignin	30,46
Abu	21,67

Delignifikasi

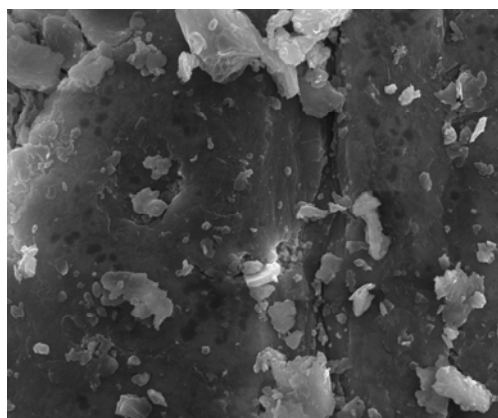
Tahap pertama pada proses ini adalah delignifikasi. Delignifikasi berguna agar aksesibilitas aktif spesies katalis terhadap struktur selulosa meningkat. Delignifikasi juga dapat mengurangi kandungan senyawa fenol dalam lignin yang dapat mengganggu pada proses fermentasi. Komposisi lignoselulosa terhadap kadar sodium hidroksida pada proses delignifikasi disajikan pada Gambar 1. Delignifikasi mencapai kondisi optimum pada konsentrasi sodium hidroksida 6% yang menyebabkan penurunan kadar lignin dari 30,46 menjadi 24,64%. Penurunan kadar lignin yang masih rendah menunjukkan kondisi operasi yang belum maksimal karena lignin hanya akan terurai pada suhu yang relatif tinggi. Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya melaporkan kondisi optimal delignifikasi pada suhu 160-260°C dengan tekanan 0,69-4,83 MPa, yang setara dengan 6,8-47,7 atm (Grous dkk., 1986) dan pada suhu 270°C selama 1 menit atau 190°C selama 10 menit (Duff dan Murray, 1996).



Gambar 1. Komposisi lignoselulosa terhadap kadar sodium hidroksida pada proses delignifikasi

Gambar mikroskopis permukaan CPH sebelum delignifikasi dan setelah delignifikasi disajikan pada Gambar 2. Permukaan CPH terdiri atas partikel berbentuk lamela dan memiliki susunan fibril linier. Lamela ini terdiri atas serat-serat sehingga permukaan CPH tebal dan kasar. Adanya permukaan CPH yang tidak seragam menggambarkan lignoselulosa terdiri atas beberapa komponen berupa lignin, selulosa dan hemiselulosa, dan adanya zat ekstraktif lain seperti pektin dan polifenol (Daud dkk., 2013). Pada Gambar 2 dapat dijelaskan bahwa sodium hidroksida dapat memutus ikatan-ikatan yang ada pada masing-masing komponen yang ditunjukkan dengan adanya perubahan permukaan CPH yakni dengan adanya beberapa rongga yang terlihat, meskipun pada kondisi ini belum optimal karena sebagian besar komponen lignoselulosa masih terlihat utuh. Utuhnya sebagian besar lignoselulosa memperlihatkan kadar lignin yang masih cukup tinggi. Lignin tersusun atas merupakan polimer aromatik

membentuk matriks yang sangat kompleks. Oleh karena itu, lignin harus dihilangkan sebelum proses hidrolisis selulosa dan hemiselulosa agar menghasilkan asam laktat yang optimal.



(a)

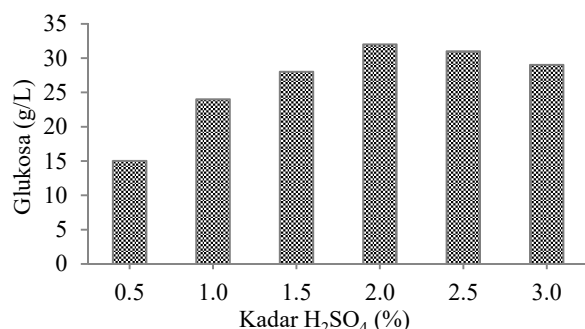


(b)

Gambar 2. Gambar mikroskopis permukaan CPH (a) sebelum delignifikasi dan (b) setelah delignifikasi

Hidrolisis

Produksi glukosa terhadap kadar asam sulfat pada proses hidrolisis disajikan pada Gambar 3.



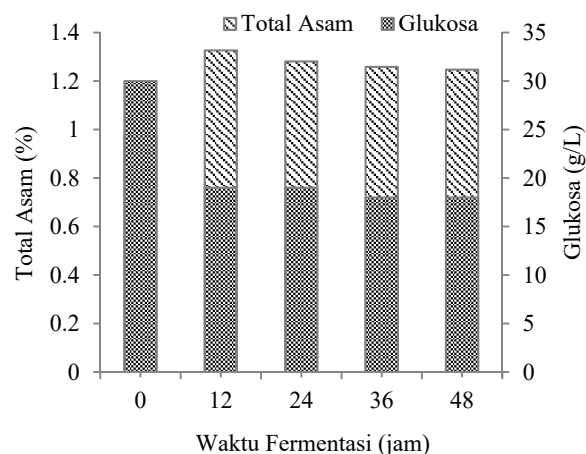
Gambar 3. Produksi glukosa terhadap kadar asam sulfat pada proses hidrolisis

Asam berfungsi sebagai katalis, sehingga konsentrasi asam yang semakin tinggi dapat mempercepat laju reaksi dan meningkatkan kadar glukosa yang terbentuk. Pada konsentrasi asam sulfat 2,0 ke 3,0% terjadi penurunan kadar glukosa akibat adanya degradasi senyawa hasil hidrolisa. Makin tinggi

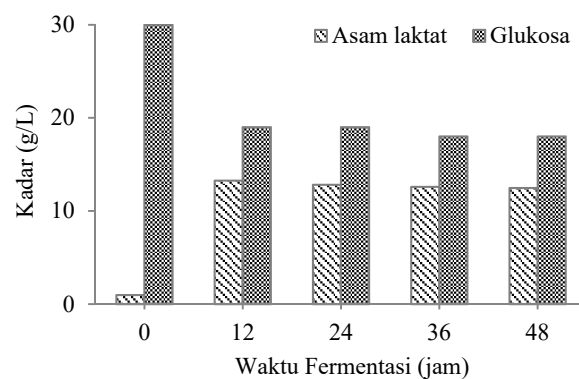
konsentrasi katalis maka reaksi akan semakin cepat atau laju reaksi semakin besar, namun konsentrasi asam yang terlalu tinggi dapat menyebabkan degradasi rantai glukosa dan senyawa gula lainnya menjadi senyawa hidroksi metil furfural (HMF) dan furfural yang akhirnya keduanya akan membentuk asam formiat (Tahezadeh dan Karimi, 2007).

Fermentasi

Produksi asam laktat dan konsumsi glukosa pada proses fermentasi menggunakan *Lactobacillus plantarum* disajikan pada Gambar 4. Konsentrasi optimum asam laktat sebesar 1,33% dan glukosa yang dikonsumsi 12 g/L. Bila dikonversi ke satuan g/L, asam laktat yang terbentuk sebesar 13,268 g/L pada kondisi optimum yang dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Produksi total asam laktat dan konsumsi glukosa pada proses fermentasi



Gambar 5. Kadar asam laktat dan glukosa pada proses fermentasi

Penelitian sejenis dengan bahan lignoselulosa berupa ampas tebu menggunakan bakteri *Lactobacillus delbreuckii* menghasilkan 67,0 g/L asam laktat (Adsul dkk., 2007) dan limbah tongkol jagung menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* menghasilkan kadar asam laktat 73,2 g/L (Okano dkk., 2009). Meskipun potensi lignoselulosa pada CPH cukup tinggi, namun asam laktat yang dihasilkan dalam penelitian masih belum optimal yang disebabkan karena masih adanya senyawa inhibitor dalam media fermentasi. Senyawa

inhibitor dapat memasuki membran sel dan menurunkan pH antar sel sehingga mempengaruhi metabolisme mikroorganisme (Rodríguez-Chong dkk., 2004). CPH diketahui mengandung sejumlah besar senyawa kimia yang bersifat antimikroba yang memiliki peran sebagai antimikroba, antivirus dan antioksidan (Ariestanto dkk., 2012).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa delignifikasi kulit buah kakao dengan larutan sodium hidroksida mencapai kondisi optimum pada konsentrasi NaOH 6% yang menyebabkan penurunan kadar lignin dari 30,46 menjadi 24,64%. Proses hidrolisis asam terhadap kulit buah kakao terdelignifikasi mencapai kondisi optimum pada konsentrasi H₂SO₄ 2,0%, suhu 120°C dan waktu 30 menit yang menghasilkan glukosa sebesar 32 g/L. Glukosa hasil hidrolisis asam menghasilkan asam laktat sebesar 13,268 g/L.

DAFTAR PUSTAKA

- Adsul, M.G., Varma, A.J., and Gokhale, D.V., (2007), Lactic Acid Production from Waste Sugarcane Bagasse Derived Cellulose, *Green Chem.*, 9, pp. 58-62.
- Albalasmeh, A.A., Berhe, A.A., and Ghezzehei, T.A., (2013), A New Method for Rapid Determination of Carbohydrate and Total Carbon Concentrations Using UV Spectrophotometry, *Carbohydr. Polym.*, 97, pp. 253-261.
- Alemawor, F., Victoria, P.D., Oddoye, E.O.K., and Oldham, J.H., (2009), Effects of *Pleurotus Ostreatus* Fermentation on Cocoa Pod Husk Composition: Influence of Fermentation Period and Mn²⁺ Supplementation on the Fermentation Process, *Afr. J. Biotechnol.*, 8(9), pp. 1950-1958.
- Ariestanto, D., Lutfan, M., dan Furoida, Y., (2012), Potensi Pemanfaatan Flavonoid Limbah Kulit Kakao sebagai Bahan Tambahan Pembuatan Permen Antikariogenik. *Maj BIMKGI*, 1(1), hal. 1-4.
- Cruz, G., Pirilä, M., Huuhtanen, M., Carrión, L., Alvarenga, E., and Keiski, R.L., (2012), Production of Activated Carbon from Cocoa (*Theobroma Cacao*) Pod Husk, *J. Civ. Env. Eng.*, 2(2), pp. 1-6.
- Daud, Z., Kassim, A.S.M., Aripin, A.M., Awang, H., and Hatta, M.Z.M. (2013), Chemical Composition and Morphological of Cocoa Pod Husks and Cassava Peels for Pulp and Paper Production, *Australian J. Basic Appl. Sci.*, 7(9), pp. 406-411.
- Indrarti L., Rahimi, E., dan Tati, (2005), Biosintesis Asam Laktat sebagai Bahan Baku Plastik Biodegradabel, *Prosiding Simposium Nasional Polimer*, 5, hal 89-94.
- Nisa, D. dan Putri, W.D.R., (2014), Pemanfaatan Selulosa dari Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) sebagai Bahan Baku Pembuatan Carboxymethyl Cellulose (CMC), *J. Pangan dan Agro*, 2(3), hal. 34-42.
- Okano, K., Zhang, Q., Shinkawa, S., Yoshida, S., Tanaka, T., Fukuda, H., and Kondo A., (2009), Efficient Production of Optically Pure D-Lactic Acid from Raw Corn Starch by Using Genetically Modified L-Lactate Dehydrogenase Gene-Deficient and A-Amylase-Secreting *Lactobacillus Plantarum* Strain, *Appl Environ Microbiol.*, 75, pp. 462-467.
- Oshiro, M., Shinto, H., Tashiro, Y., Miwa, N., Sekiguchi, T., Okamoto, M., Ishizaki, A., and Sonomoto, K., (2009), Kinetic Modeling and Sensitivity Analysis of Xylose Metabolism in *Lactococcus lactis* IO-1. *J. Biosci. Bioeng.*, 108, pp. 376-384.
- Pratama, A.Y., Febriani, R.N., dan Gunawa, S. (2013), Pengaruh Ragi Roti, Ragi Tempe, dan *Lactobacillus Plantarum* terhadap Total Asam Laktat dan pH pada Fermentasi Singkong, *Jurnal Teknik Pomits*, 2(1), hal. 45-49
- Pratiwi, Eka, P., Yatim, M., dan Edahwati, L., (2010), Pemanfaatan Kulit Buah Cokelat sebagai Bioetanol, *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Soeardjo Brotohardjono*, D(7), hal. 1-10.
- Puastuti, W. dan Susana, I.W.R., (2014), Potensi dan Pemanfaatan Kulit Buah Kakao sebagai Pakan Alternatif Ternak Ruminansia, *WARTAZOA*, 24(3), hal. 151-159.
- Rodríguez-Chong, A., Ramírez, J.A., Garrote, G., and Vázquez, M. (2004), Hydrolysis of Sugarcane Bagasse Using Nitric Acid: A Kinetic Assessment, *J. Food Eng.*, 61, pp. 143-152.
- Singhvi, M., Joshi, D., Adsul, M., Varma, A., and Gokhale, D. (2010), d(-)-Lactic Acid Production from Cellobiose and Cellulose by *Lactobacillus lactis* mutant RM2-24, *Green Chem.*, 12, pp. 1106-1109.
- Taherzadeh, M.J. and Karimi, K. (2007), Acid-based Hydrolysis Processes For Ethanol from Lignocellulosic Materials: A Review, *BioResour.*, 2, pp. 472-499.
- Tashiro, Y., Kaneko, W., Sun, Y., Shibata, K., Inokuma, K., Zendo, T., and Sonomoto, K. (2011), Continuous D-lactic Acid Production by a Novel Thermotolerant *Lactobacillus delbrueckii subsp lactis* QU 41. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 89, pp. 1741-1750.
- Wijaya, M.M., 2014, Pemanfaatan Limbah Kakao sebagai Bahan Baku Produk Pangan, *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*, 6, hal. 528-535.