

Skrining Bakteri *Lactobacillus* dan *Weisella* untuk Produksi Asam Laktat dengan Metode Fermentasi Batch

Atika Nandini^{1*}; Silvana Dwi Nurherdiana¹; Dilirani Nagarajan²; Jo Shu- Chang^{2,3}

¹Departemen Teknik Kimia, Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur, Surabaya

²Department of Chemical Engineering, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan

³Research Center for Energy Technology and Strategy, National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan

*Corresponding author:

Abstract

Seven types of lactic acid bacteria (LAB) were used with batch lactic acid fermentation method. This study aims to determine effectiveness performance of LAB to produce LA in order to obtain high yield and productivity. Bacteria were *L. plantarum*, *L. sakei*, *Weisella* sp. 26, *Weisella* sp. 28, *Weisella* sp. 29, *Weisella cibaria* and *Weisella paramesenteroides*. LA production was carried out by using incubation and fermentation process. The incubation conditions: temperature of 30°C, glucose conc. of 20 g/L, agitation of 200 rpm, time of 14 h. Optimal fermentation conditions: pH of 5.5, temperature of 30°C, glucose conc. of 40 g/L, agitation of 200 rpm, time of 24 h, under anaerobic condition. Glucose and LA were analyzed by using HPLC. Highest LA productivity of 4.46 g/L/h was obtained using *L. plantarum*.

Keywords: lactic acid bacteria, batch fermentation, *Lactobacillus*, *Weisella*.

Abstrak

Produksi asam laktat menggunakan tujuh jenis bakteri dengan metode fermentasi batch. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas kinerja bakteri asam laktat dalam memproduksi asam laktat sehingga didapatkan yield dan produktivitas yang tinggi. Jenis bakteri yang digunakan adalah *L. plantarum*, *L. sakei*, *Weisella* sp. 26, *Weisella* sp. 28, *Weisella* sp. 29, *Weisella cibaria* dan *Weisella paramesenteroides*. Produksi asam laktat dilakukan dengan menggunakan proses inkubasi dan fermentasi. Kondisi inkubasi adalah suhu 30°C, konsentarsi glukosa 20g/L, putaran 200 rpm dan waktu inkubasi selama 14 jam. Kondisi fermentasi adalah pH 5.5, suhu 30°C, konsentarsi glukosa 40 g/L, putaran 200 rpm, waktu inkubasi selama 24 jam dan dalam kondisi anaerobik. Analisa glukosa dan asam laktat menggunakan alat instrumen HPLC. Produktivitas asam laktat tertinggi 4,46 g/L/jam didapatkan dari hasil fermentasi dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum*.

Kata kunci: bakteri asam laktat, fermentasi batch, *Lactobacillus*, *Weisella*.

I. Pendahuluan

Asam laktat merupakan bahan organik alami yang banyak digunakan di industri seperti industri makanan dan industri farmasi. Asam laktat juga digunakan sebagai bahan baku utama dari pembuatan polimer biodegradable yaitu polylactic acid (PLA). PLA merupakan salah satu alternatif polimer yang ramah lingkungan serta dapat digunakan sebagai bahan baku untuk bahan bakar fosil [1]. PLA dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pengganti polimer seperti polyethylene (PE), polyethylene terephthalate (PET), polystyrene (PS) dan polypropylene (PP). Asam laktat juga dapat digunakan untuk pembuatan etil laktat, ini merupakan pelarut ramah lingkungan yang dihasilkan dari esterifikasi etanol dengan asam laktat [2]. Kebutuhan asam laktat di Indonesia diperkirakan akan terus meningkat bila dilihat dari semakin banyaknya industri yang menggunakannya. Banyaknya industri yang memerlukan asam laktat membuktikan bahwa adanya kesempatan pasar yang cukup besar dalam produksi asam laktat. Asam laktat dapat juga diproduksi dari limbah-limbah industry maupun bahan baku terbarukan dimana bahan baku tersebut sangat banyak di Indonesia.

Asam laktat dapat diproduksi dengan dua cara yaitu sintesis kimiawi dan fermentasi mikroba. Cara sintesis kimia terjadi melalui jalur laktonitril menggunakan asetaldehida dan asam laktat yang dihasilkan merupakan

campuran rasemisasi asam laktat dari bentuk D(+) dan L(-). Sedangkan, cara fermentasi mikroba terjadi dengan bantuan mikroorganisme dan asam laktat yang dihasilkan memiliki tingkat kemurnian yang tinggi yaitu hingga 90-95% (v/v) [3]. Fermentasi mikroba memiliki keuntungan sebagai berikut : pemanfaatan biomassa karbohidrat sebagai bahan baku hemat biaya, beroperasi pada suhu rendah sehingga konsumsi energi rendah dan dapat memproduksi asam laktat dengan tingkat kemurnian tinggi dengan memilih mikroorganisme yang sesuai [4]. Sekitar 90% asam laktat di dunia diproduksi dengan cara fermentasi mikroba, sedangkan sisanya dengan menggunakan sintesis kimiawi [5]. Fermentasi mikroba dapat berlangsung dalam kondisi aerobik maupun anaerobik. Sumber karbon yang digunakan mikroba untuk memproduksi asam laktat dapat berupa gula murni (glukosa, laktosa, xilosa, galaktosa) dan gula kompleks seperti karbohidrat.

Metode yang paling umum digunakan untuk produksi asam laktat adalah fermentasi batch. Kondisi operasi fermentasi berbeda-beda untuk setiap sistem, tetapi biasanya pada suhu 45-60°C, pH 5,0-6,5 untuk *Lactobacillus delbrueckii* dan pada suhu 43°C dengan pH 6,0-7,0 untuk *Lactobacillus bulgaricus*. Proses fermentasi dilakukan selama \pm 1-2 hari dalam kondisi operasi yang optimal. Tingkat kemurnian produk asam laktat setelah proses

fermentasi sebesar 90-95% (v/v) berdasarkan konsentrasi sumber karbon. Kondisi optimal fermentasi tergantung pada parameter seperti pH, suhu, konsentrasi awal substrat dan juga konsentrasi nutrisi (seperti nitrogen, mineral, vitamin) [6].

Pada umumnya, bakteri asam laktat (BAL) merupakan kelompok bakteri gram positif yang tidak membentuk spora dan dapat memfermentasikan karbohidrat untuk memproduksi asam laktat. BAL dapat tumbuh pada kondisi anaerobik karena tidak membutuhkan oksigen untuk pembentukan energinya, tetapi mereka juga dapat tumbuh pada lingkungan yang memiliki oksigen sebagai anaerob aerotoleran [7]. Bakteri (BAL) yang diinginkan oleh industri saat ini adalah mikroba yang mempunyai kemampuan untuk melakukan fermentasi dalam waktu singkat, tidak membutuhkan banyak nutrisi (seperti karbon, nitrogen, mineral, asam amino dan vitamin), tetapi dapat menghasilkan asam laktat dengan yield yang tinggi serta hanya menghasilkan sedikit produk samping (kondisi operasi suhu rendah dan pH tinggi) [8].

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas kinerja bakteri asam laktat berdasarkan produksi asam laktat dengan *yield* dan produktivitas yang tinggi serta kemampuan bakteri untuk memproduksi asam laktat dalam waktu singkat. Bakteri asam laktat yang memiliki kinerja optimal

akan digunakan untuk penelitian asam laktat selanjutnya. Dimana penelitian selanjutnya yaitu fermentasi asam laktat dengan menggunakan beberapa sumber bahan baku alternatif, yang mampu menghasilkan produktivitas asam laktat dengan konversi substrat yang tinggi dan efektif, seperti mikroalga, ampas tebu, whey keju (limbah produksi keju), dll.

II. Metodologi

Bakteri dan Media

Bakteri diperoleh dari salah satu laboratorium PTN di Taiwan. Strain yang digunakan ada 7 jenis yaitu : *L. plantarum* , *L. sakei* , *Weisella sp.* 26, *Weisella sp.* 28, *Weisella sp.* 29, *Weisella cibaria* dan *Weisella paramesenteroides*. Media untuk pertumbuhan bakteri adalah MRS-*broth* (deMan, Rogosa dan Sharpe) yang mengandung pepton, 10 g/L; ekstrak daging, 10 g/L; Tween 80, 1 mL/L; kalium fosfat, 2 g/L; natrium asetat, 5 g/L; amonium sitrat, 2 g/L; magnesium sulfat, 0,1 g/L; mangan sulfat, 0,05 g/L. Konsentrasi glukosa dalam media divariasikan sesuai dengan kebutuhan penelitian.

Inkubasi bakteri

Bakteri dikembangkan dalam 250 ml erlenmeyer yang berisi 100 ml media MRS-*broth* dengan konsentrasi glukosa sebesar 20 g/ kemudian diinkubasi selama 14 jam di dalam orbital shaking incubator pada suhu

30°C dan putaran 200 rpm. Kondisi ini digunakan untuk masing- masing bakteri. Kemudian, dilakukan pemisahan antara filtrat dan suspensi sel dengan menggunakan centrifuge dengan putaran 10000 rpm selama 5 menit pada suhu 25°C. Suspensi sel digunakan untuk proses selanjutnya yaitu fermentasi

Metode Fermentasi Batch

25% (%v/v) dari suspensi sel dipindahkan ke 500 ml reaktor yang berisi medium MRS-broth baru dengan konsentrasi glukosa 40 g/L untuk membentuk 200 ml volume akhir. Pada fermentor diinjeksikan gas argon untuk menggantikan udara yang ada dan ditambahkan 1 ml L-cysteine HCl (100 g/l) ke dalam medium. Proses fermentasi dilakukan dalam kondisi anaerobik pada suhu 30°C dan kecepatan pengadukan 200 rpm selama 24 jam. Analisa asam laktat dilakukan setiap 2 jam sekali dengan menggunakan alat instrumen HPLC. Proses fermentasi dijaga pada pH 5,5 dengan menambahkan larutan NaOH dengan konsentrasi sebesar 5 N sebagai pengontrolnya.

Metode Analisa Data

Konsentrasi suspensi sel ditentukan menggunakan spektrofotometer UV/Vis (Model U- 2001, Hitachi, Jepang) dengan panjang gelombang absorpsi pada 600 nm. Konsentrasi glukosa, asam laktat dan by-product (asam asetat, etanol) ditentukan

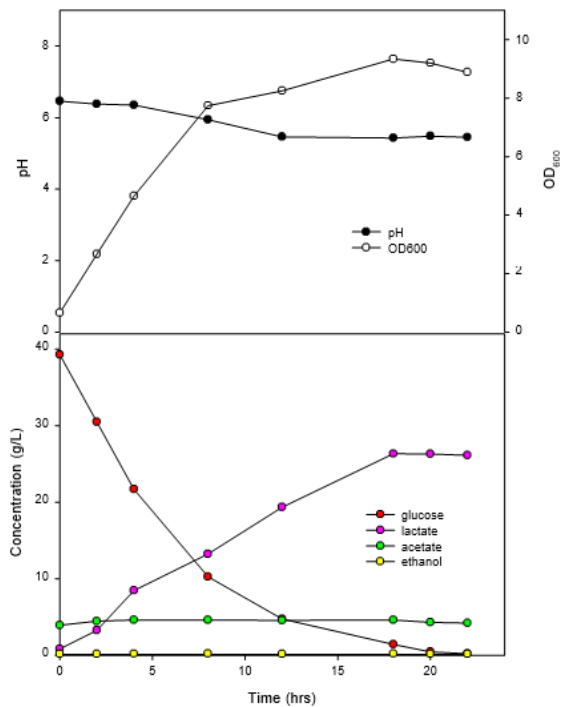
menggunakan HPLC atau *High performance liquid chromatography* (Model 2489, Waters, USA) yang dilengkapi dengan ICsep ICE-COREGEL 87H3 kolom dan detektor indeks bias (RID). Mobile phase yang digunakan adalah 0,008 N H₂SO₄ dengan laju alir 0,4 ml/menit. Suhu kolom dipertahankan pada 70°C dan volume injeksi adalah 20 µL. Konsentrasi glukosa, asam laktat dan by-product (asam asetat, etanol) dihitung dari standar kurva kalibrasi.

III. Hasil dan Pembahasan

Dalam penelitian ini, tujuh jenis bakteri yang digunakan untuk memproduksi asam laktat menggunakan fermentasi batch. Tujuh jenis bakteri asam laktat memiliki kemampuan masing- masing untuk memproduksi asam laktat. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus plantarum* 23, *Lactobacillus sakei* 25, *Weissella cibaria*, *Weissella* sp. 26, *Weissella* sp. 28, *Weissella* sp. 29 dan *Weissella paramesenteroides*. Kondisi operasi untuk proses fermentasi ini sebagai berikut : pH 5,5, suhu 30°C, konsentrasi sumber karbon (glukosa) 40 g/L, putaran 200 rpm dan dalam kondisi anaerobik.

Gambar 1 menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* dapat memproduksi asam laktat dengan konsentrasi sebesar 26,31 g/L. Selama proses fermentasi, etanol muncul sebagai produk samping. Namun, jumlah etanol tidak meningkat secara signifikan

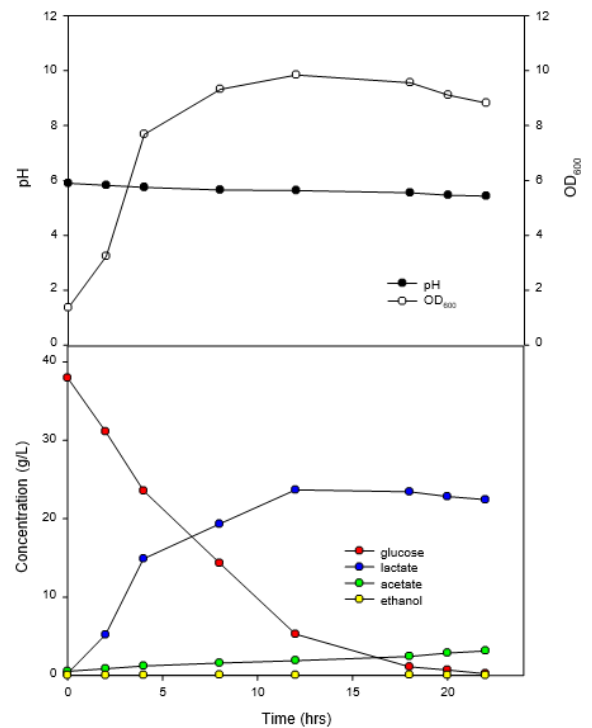
selama proses tersebut. Konsentrasi asetat sebagai produk samping sebesar 2,93 g /L. Produktivitas asam laktat sebesar 4,46 g/L/jam dan biomassa maksimum yang didapatkan sebesar 9,84 g/L dengan menggunakan strain *Lactobacillus plantarum* untuk menghasilkan asam laktat.



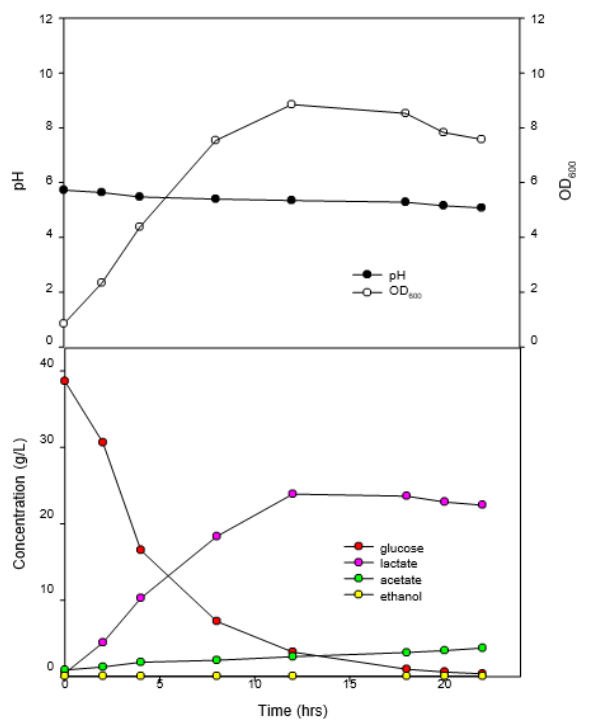
Gambar 1. Fermentasi Batch dengan menggunakan *Lactobacillus plantarum*

Gambar 2 menunjukkan bahwa *Lactobacillus sakei* dapat memproduksi asam laktat dengan konsentrasi sebesar 22,77 g/L dengan produktivitas dan yield sebesar 4,30 g/L/jam dan 0,60 g/g, berturut-turut. Konsentrasi asetat sebesar 3,15 g /L. Gambar 3 menunjukkan bahwa *Weissella cibaria* dapat memproduksi asam laktat dengan konsentrasi sebesar 23,35 g/L dengan produktivitas dan yield sebesar 3,09 g/L/jam dan 0,51 g/g,

berturut-turut. Tetapi konsentrasi asetat meningkat menjadi 3,74 g /L.



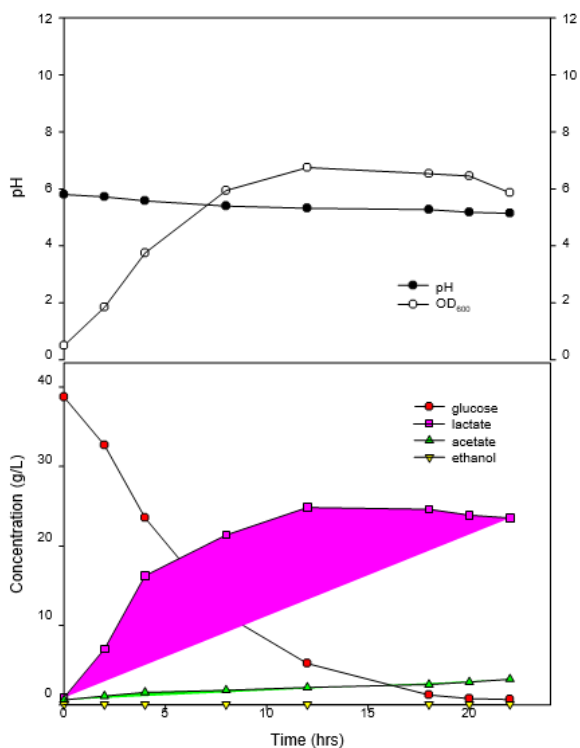
Gambar 2. Fermentasi Batch dengan menggunakan *Lactobacillus sakei*



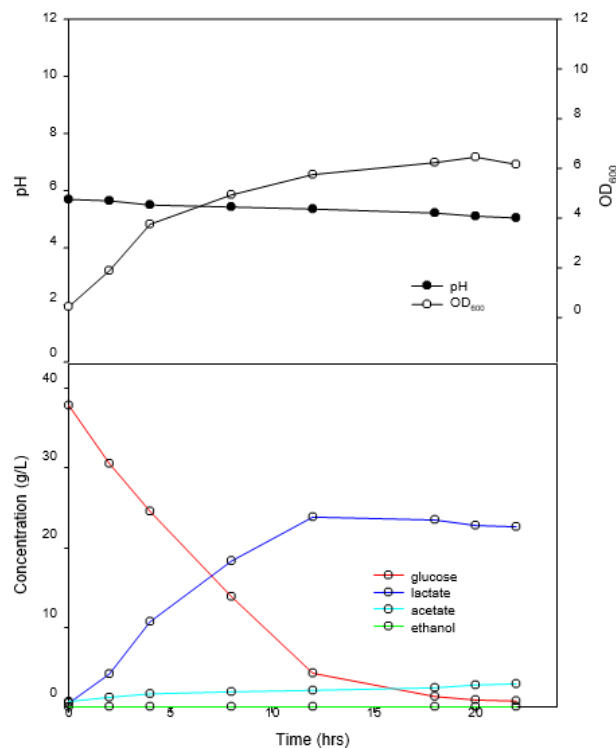
Gambar 3. Fermentasi Batch dengan menggunakan *Weissella cibaria*

Gambar 4 menunjukkan bahwa *Weisella sp. 26* menghasilkan asam laktat dengan konsentrasi sebesar 24,04 g/L dengan produktivitas dan yield yang rendah yaitu sebesar 2,80 g/L/jam dan 0,38 g/g, berturut-turut. Konsentrasi asetat sebesar 3,24 g /L. Gambar 5 menunjukkan bahwa *Weisella sp.*

28 memproduksi asam laktat dengan konsentrasi cukup tinggi sebesar 25,14 g/L dengan produktivitas dan yield sebesar 3,15 g/L/jam dan 0,44 g/g, berturut-turut. Untuk konsentrasi asetat meningkat secara signifikan hingga mencapai 4,18 g /L.



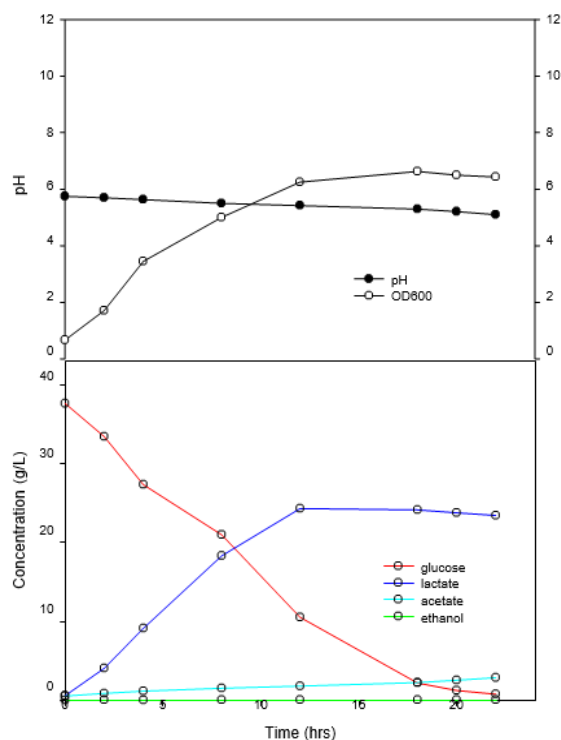
Gambar 4. Fermentasi Batch dengan menggunakan *Weisella sp. 26*



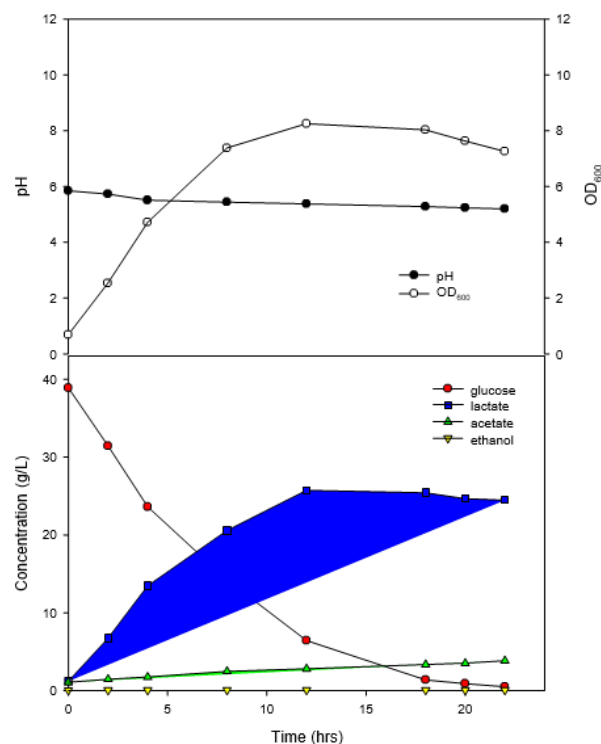
Gambar 5. Fermentasi Batch dengan menggunakan *Weisella sp. 28*

Gambar 6 menunjukkan bahwa *Weisella sp. 29* dapat memproduksi asam laktat dengan konsentrasi sebesar 23,30 g/L dengan produktivitas dan yield sebesar 3,03 g/L/jam dan 0,30 g/g, berturut-turut. Konsentrasi asetat sebesar 3,85 g /L. Gambar 7 menunjukkan

bahwa *Weisella paramesenteroides* menghasilkan asam laktat dengan produktivitas dan yield sebesar 3,37 g/L/jam dan 0,55 g/g, berturut-turut. Dan untuk konsentrasi asetat yang dihasilkan cukup rendah yaitu sebesar 2,89 g /L.



Gambar 6. Fermentasi Batch dengan menggunakan *Weisella sp. 29*



Gambar 7. Fermentasi Batch dengan menggunakan *Weisella paramesenteroides*

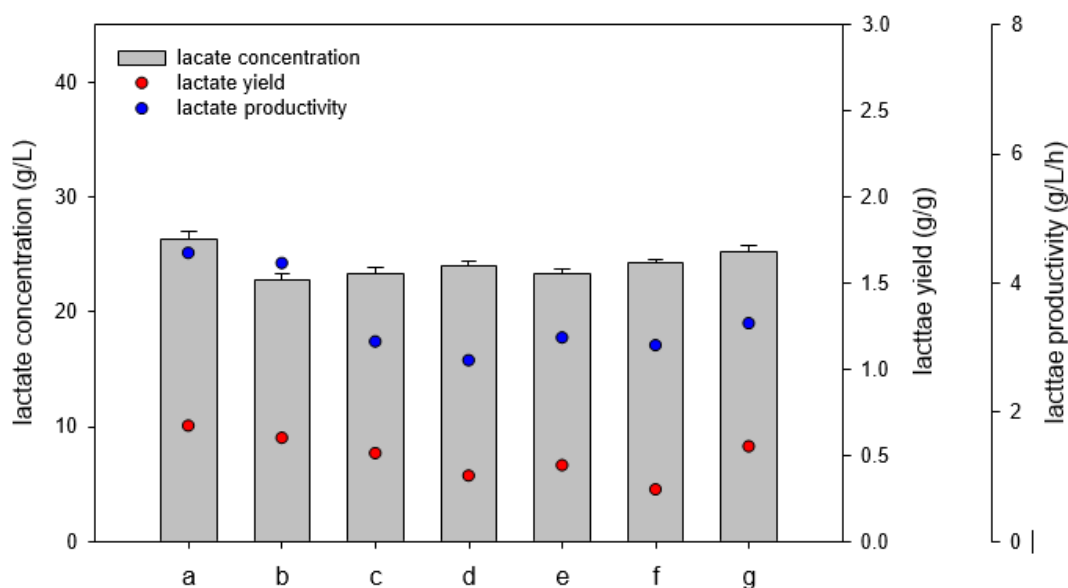
Genus *Weisella*, strain *Weisella paramesenteroides* cukup efektif untuk digunakan sebagai mikroba penghasil asam laktat. Hal ini dikarenakan asam laktat yang dihasilkan sekitar 24,22 g/L dengan produktivitas dan yield sebesar 3,37 g/L/jam dan 0,55 g/g, berturut-turut. Dan juga asetat sebagai produk samping hanya 2,89 g/L (Tabel 1).

Tabel 1 menunjukkan bahwa *L. plantarum* dapat memproduksi asam laktat dengan konsentrasi, produktivitas serta yield yang tinggi sebesar 26,31 g/L; 0,67 g/g; 4,46 g/L/h, berturut-turut, dibandingkan dengan BAL yang lainnya. *L. plantarum* juga dapat memanfaatkan glukosa sebagai sumber karbon dengan efektif dan efisien,

yaitu sebesar 99,46%, sehingga dapat menghasilkan produktivitas asam laktat yang tinggi. *L. plantarum* memiliki ketahanan terhadap kadar oksigen yang rendah, sangat tahan terhadap asam, dapat memanfaatkan oksigen untuk metabolisme asam laktat dan juga pertumbuhan sel [9]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kinerja *L. plantarum* lebih efektif dan efisien dalam memproduksi asam laktat karena mampu menghasilkan asam laktat dengan konsentrasi yang tinggi sebesar 26,31 g/L dalam waktu inkubasi yang singkat yaitu 18 jam. Bakteri ini juga menghasilkan yield sebesar 0,67 g/g dan produktivitas sebesar 4,46 g/L/h, dimana hasil tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan bakteri lainnya (Gambar 8).

Tabel 1. Hasil Produksi Asam Laktat dengan Beberapa Jenis Bakteri Asam Laktat.

Strain	Lactate conc. (g/L)	Lactate yield (g/g)	Lactate productivity (g/L/h)	Sugar consumption (%)	Acetate conc. (g/L)	Maximum biomass (g/L)
<i>Lactobacillus plantarum</i>	26.31	0.67	4.46	99.46	2.93	9.84
<i>Lactobacillus sakei</i>	22.77	0.60	4.30	99.37	3.15	8.55
<i>Weissella cibaria</i>	23.35	0.51	3.09	99.02	3.74	8.85
<i>Weissella</i> sp. 26	24.04	0.38	2.80	98.24	3.24	6.75
<i>Weissella</i> sp.28	25.14	0.44	3.15	98.69	4.18	6.45
<i>Weissella</i> sp. 29	23.30	0.30	3.03	97.94	3.85	6.63
<i>Weissella paramesenteroides</i>	24.22	0.55	3.37	97.82	2.89	8.25



Gambar 8. Efektivitas Produksi Asam Laktat dengan Jenis Bakteri Asam Laktat (a) *Lactobacillus plantarum* 23; (b) *Lactobacillus sakei* 25; (c) *Weissella cibaria*; (d) *Weissella* sp. 26; (e) *Weissella* sp. 28; (f) *Weissella* sp. 29; dan (g) *Weissella paramesenteroides*.

IV. Kesimpulan

Proses fermentasi asam laktat dengan menggunakan *L. plantarum* menghasilkan produktivitas dan yield asam laktat tertinggi sebesar 4,46 g/L/h dan 0,67 g/g, berturut-turut. Kinerja bakteri *L. plantarum* lebih efektif dan

efisien dibandingkan dengan bakteri asam laktat yang lain karena kemampuannya untuk menghasilkan konsentrasi asam laktat tinggi dalam waktu yang relatif singkat dan dapat memanfaatkan atau mengkonversi sumber karbon dengan efisien.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada tim, baik yang di UPN “Veteran” Jawa Timur maupun di National Cheng Kung University, Taiwan yang telah membantu saya dalam penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Yadav, A. K., Chaudhari, A. B., & Kothari, R. M., “Bioconversion of renewable resources into lactic acid: an industrial view”, *Critical Reviews in Biotechnology*, 31(1), 1-19. 2011.
- [2] Pereira, C. S. M.; Rodrigues, A. E., “Ethyl Lactate Main Properties, Production Processes, and Applications. in: *Alternative Solvents for Natural Products Extraction*”, (Eds.) F.Chemat, M. A. Vian, Springer Berlin Heidelberg. Berlin, Heidelberg, 107. 2014.
- [3] Kotzamanidis, C. H., Roukas, T., & Skaracis, G., “Optimization of lactic acid production from beet molasses by *Lactobacillus delbrueckii* NCIMB 8130”, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 18(5), 441-448. 2002.
- [4] Abdel-Rahman, M. A., Tashiro, Y., & Sonomoto, K. “Lactic acid production from lignocellulose-derived sugars using lactic acid bacteria: Overview and limits”, *Journal of Biotechnology*, 156(4), 286-301. 2011.
- [5] Zhou, S., Shanmugam, K. T., Yomano, L. P., Grabar, T. B., & Ingram, L. O. “Fermentation of 12% (w/v) glucose to 1.2 M lactate by *Escherichia coli* strain SZ194 using mineral salts medium”, *Biotechnology Letters*, 28(9), 663–670. 2006.
- [6] Zhou, S., Causey, T. B., Hasona, A., Shanmugam, K. T., & Ingram, L. O. “Production of Optically Pure D- Lactic Acid in Mineral Salts Medium by Metabolically Engineered *Escherichia coli* W3110”. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(1), 399-407. 2003.
- [7] Madigan MT, Martinko JM, “Brock: Biology of Microorganism”, Pearson Education International. ISBN 0-13-196893-9. Page.375-377. 2006.
- [8] Narayanan, N., Roychoudhury, P. K., & Srivastava, A, “L (+) lactic acid fermentation and its product polymerization”, *Electronic Journal of Biotechnology*, 7(2), 167-178. 2004.
- [9] Khumalawati, I. & Ulfa, Y., “Pemanfaatan Limbah Kubis Menjadi Asam Laktat”, Teknik Kimia, *Universitas Diponegoro*. 2009.