

APLIKASI LIMBAH KULIT BUAH KAKAO SEBAGAI MEDIA FERMENTASI ASAM LAKTAT UNTUK BAHAN BAKU BIOPLASTIK

(APPLICATION OF COCOA POD HUSK WASTE AS A MEDIUM FOR LACTIC ACID FERMENTATION FOR RAW MATERIALS OF BIOPLASTIC)

Rambat^{1,2*}, Nurul Hidayat Aprilita¹, dan Bambang Rusdiarso¹,

¹Departemen Kimia, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Balai Besar Kulit, Karet dan Plastik, Yogyakarta

E-mail : rambat80@yahoo.com

Received : 18 September 2015; revised : 28 September 2015; accepted : 30 September 2015

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari kondisi optimum proses delignifikasi, hidrolisis asam dan enzimatis kulit buah kakao serta pemanfaatannya sebagai media fermentasi asam laktat. Karakterisasi kulit buah kakao dilakukan dengan metode *X-Ray Diffraction (XRD)*, Spektrometri *Infra Red (IR)* dan *Scanning Electron Microscopy (SEM)*. Konsentrasi glukosa ditentukan secara kuantitatif dengan metode UV-Sulfat, sedangkan total asam laktat dengan metode titrasi asam basa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi optimum NaOH pada delignifikasi kulit buah kakao adalah 6%, sedangkan kondisi optimum hidrolisis asam adalah konsentrasi H_2SO_4 2,0%, suhu 120°C dan waktu 30 menit. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa proses ini hanya dapat menghidrolisis hemiselulosa dan selulosa amorf. Glukosa hasil hidrolisis asam dapat digunakan sebagai media fermentasi dan menghasilkan asam laktat sebesar 13,27 g/L.

Kata kunci : Kulit buah kakao, Delignifikasi, Hidrolisis, Fermentasi

ABSTRACT

This research aims to determine the optimum conditions for delignification, acid hydrolysis process of cocoa pod husk and its use as a medium for lactic acid fermentation. The characterization of the cocoa pod husk was conducted by using X-Ray Diffraction (XRD), Infra Red Spectrometry (IR) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The glucose concentration was determined quantitatively by UV-sulfate method, while the lactic acid concentration by acid-base titration method. The results showed that the optimum NaOH concentration for cocoa pod husk delignification was 6%, while the optimum conditions of acid hydrolysis process were 2.0% H_2SO_4 concentration, temperature of 120°C and within 30 minutes. The result characterization showed that the process could hydrolyze hemicellulose and amorf cellulose only. Glucose resulted from acid hydrolysis could be used as a medium for lactic acid fermentation that produced 13.27 g/L lactic acid.

Keywords : Cacao pod husk, Delignification, Hydrolysis, Fermentation

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara penghasil kakao (*Theobroma Cacao L.*) terbesar ketiga setelah Pantai Gading dan Ghana. Produksi kakao di Indonesia pada tahun 2010/2011 mencapai 450.000 ton dan diperkirakan pada tahun 2011 sampai dengan 2012 produksi kakao Indonesia mencapai 500.000 ton. Pada tahun 2011, luas tanaman kakao di Indonesia mencapai 1.677.254 ha dengan produksi sebesar 712.231 ton dan didominasi oleh perkebunan rakyat (94,5%) (Direktorat Jenderal

Perkebunan, 2011). Kulit buah kakao (*Cocoa pod husk, CPH*) merupakan limbah dari pengolahan biji kakao. Pengolahan buah kakao menghasilkan sejumlah besar kulit buah kakao sebagai limbah (Alemawor *et al.* 2009). Berat kulit buah kakao berkisar antara (70 % sampai dengan 75%) dari berat buah utuh kakao, di mana setiap ton buah kakao akan menghasilkan 700 kg sampai dengan 750 kg kulit buah kakao (Cruz *et al.* 2012). Kulit buah kakao mengandung 74,0% holoselulosa, 35,4%

selulosa, 37,0% hemiselulosa dan 14,7% lignin (Daud *et al.* 2013).

Limbah hasil panen dan pengolahan pertanian termasuk kulit atau cangkang buah kakao belum dimanfaatkan secara optimal. Kulit buah kakao telah diteliti dapat digunakan sebagai bahan pembuatan bioetanol (Pratiwi *et al.* 2010), bahan pembuatan karbon aktif (Cruz *et al.* 2012), pakan ternak (Puastuti dan Susanna 2014), bahan baku pembuatan *Carboxymethyl Cellulose (CMC)* (Nisa *et al.* 2014) dan bahan baku produk pangan (Wijaya 2014).

Asam laktat dapat dipolimerisasi menjadi *polylactic acid* untuk pembuatan plastik *biodegradable* yang digunakan untuk aplikasi medis (Hofvendahl dan Hågerdal 2000). Plastik *biodegradable* atau bioplastik bersifat dapat terdegradasi secara alami jika dibandingkan dengan plastik konvensional yang terbuat dari bahan baku petroleum. Asam laktat dapat dibuat melalui proses fermentasi maupun sintesis kimia. Fermentasi merupakan metoda yang paling banyak digunakan oleh industri. Bahan lignoselulosa dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku alternatif dalam pembuatan asam laktat dengan metode fermentasi. (Rahman 2013).

Tahapan utama konversi lignoselulosa menjadi asam laktat melalui proses fermentasi adalah 1) perlakuan awal untuk menghilangkan lignin, 2) hidrolisis untuk memecah polimer selulosa menjadi gula sederhana, 3) fermentasi oleh bakteri yang sesuai (Rahman 2011). Proses penghilangan lignin (dapat dilakukan secara fisikawi, kimiawi, dan biologis). Delignifikasi secara kimiawi dapat dilakukan dengan asam, alkali, dan reagen pelarut selulosa. (Rahman 2011). NaOH dapat memisahkan lignin tanpa merusak struktur selulosa dan dapat dilakukan pada temperatur ruang.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh variasi konsentrasi basa NaOH pada proses delignifikasi limbah kulit buah kakao, menentukan kondisi optimum proses hidrolisis asam serta mempelajari penggunaan glukosa hasil hidrolisis sebagai media fermentasi asam laktat dengan bakteri *Lactobacillus plantarum*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: kulit buah kakao dari perkebunan rakyat di desa Tangkisan, Kecamatan Kokap, Kabupaten Kulonprogo, DIY. Indikator phenolphthalein, bahan kimia *grade p.a.* dari *E. Merck* antara lain: NaOH, H₂SO₄, D-

glukosa, CH₃COONa.3H₂O, MgSO₄.7H₂O, MnSO₄.4H₂O, K₂HPO₄, Triamonium sitrat, asam oksalat. Isolat *Lactobacillus plantarum* dari Laboratorium Mikrobiologi PAU UGM. Bahan mikrobiologi dari Oxoid seperti: *De Man Rogosa and Sharpe (MRS)*, sorbitan mono-oleate, peptone, *lab-lemco powder* dan *yeast extract*.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas, Oven Merk Memmert, Grinder, Sentrifuse Merk Beckman Model J-6B, *Autoclave* Merk Hirayama, Laminar, pH meter digital Merk Hanna 210, pH stick, *Incubator Shaker*, Neraca Analitik Merk Sartorius, Buret Digital, Spektrofotometer *IR* Shimadzu Model IR 8201 PC, Spektrofotometer *UV-Visible* UV-1601PC, Difraktometer sinar-X Shimadzu PC 6000, *Scanning Electron Microscopy (SEM)* (Lab LPPT UGM).

Metode

Preparasi Kulit Buah Kakao

Kulit buah kakao matang yang masih basah dijemur di bawah sinar matahari hingga kadar air ± 14% kemudian digiling dengan menggunakan grinder dengan ayakan ukuran 100 mesh. Hasil yang diperoleh dikarakterisasi dengan spektrofotometer *IR*, difraktometer sinar-X dan *Scanning Electron Microscopy* dan diuji kadar selulosa, hemiselulosa dan lignin.

Delignifikasi

NaOH (2 %, 4 %, 6 %, 8 % dan 10 %) digunakan untuk delignifikasi kulit buah kakao. Delignifikasi dilakukan pada suhu kamar selama 24 jam dengan perbandingan berat bubuk kulit buah kakao terhadap pelarut 1:15. Padatan hasil delignifikasi dilakukan uji kadar selulosa, hemiselulosa, lignin. Bubuk kulit buah kakao hasil delignifikasi optimum dikarakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer *IR* dan difraktometer sinar-X.

Hidrolisis Asam

Setelah delignifikasi, padatan yang dihasilkan dihidrolisis dengan H₂SO₄ 0,5 %(v/v); 1,0 %(v/v); 1,5 %(v/v); 2,0 %(v/v) dan 2,5 %(v/v) serta perbandingan berat bubuk kulit buah kakao terhadap larutan 1:10. Temperatur hidrolisis bervariasi pada 105 °C, 110 °C, 115 °C, 120 °C dan 125 °C dan waktu hidrolisis bervariasi selama 10 menit, 20 menit, 30 menit, 40 menit dan 50 menit. Larutan disaring, filtrat diuji dengan menggunakan spektrofotometer *UV-Visible* dan padatan pada kondisi hidrolisis optimum diuji kadar selulosa, hemiselulosa, dan ligninnya serta dikarakterisasi dengan

menggunakan spektrofotometer IR dan difraktometer sinar-X.

Fermentasi Asam Laktat

Proses fermentasi diawali dengan aktivasi bakteri *Lactobacillus plantarum*. Isolat bakteri *Lactobacillus plantarum* sebanyak 1 ml dalam gliserol diinokulasikan dalam 10 mL medium MRS kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Proses diulang sekali lagi untuk mengaktifkan bakteri. Starter dibuat dengan menginokulasikan 1 mL bakteri *Lactobacillus plantarum* dalam 10 mL media MRS dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 16 jam.

Media produksi disiapkan dari glukosa hasil hidrolisis optimum dengan cara sebanyak 50 mL glukosa dinetralkan dengan larutan NaOH 0,1 N sampai pH 5. Pengaturan pH ini dimaksudkan untuk proses detoksifikasi larutan hasil hidrolisis asam. Larutan hasil hidrolisis asam pada pH 5 ditambahkan dengan 4 g/L yeast extract, 10 g/L pepton, 8 g/L lab-lemco powder, 5 g/L sodium asetat, 1 ml/L tween 80, 2 g/L potasium fosfat, 2 g/L diammonium hidrogen sitrat, 0,2 g/L MgSO₄ dan 0,05 g/L MnSO₄. Larutan diaduk dengan pengaduk magnet sampai larut sempurna dan kemudian disterilisasi dalam autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Fermentasi asam laktat dilakukan dengan menambahkan 0,5 mL starter *Lacobacillus plantarum* ke dalam 50 mL media produksi, kemudian diagitasi dalam Incubator Shaker dengan laju pengadukan 200 rpm suhu 37°C selama 48 jam. Pengambilan sampel dilakukan pada jam ke-0 jam, 12 jam, 24 jam, 36 jam dan 48 jam.

Metode analisis

Analisis lignin selulosa dan hemiselulosa dilakukan dengan modifikasi metode Chesson. Penentuan kadar glukosa dilakukan dengan metode asam sulfat-UV (Albalasmeh *et al.* 2013). Metode ini menggunakan Spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 315 nm. Pengujian kadar asam laktat dilakukan pada filtrat hasil fermentasi. Filtrat hasil fermentasi yang telah ditambahkan 1 tetes sampai dengan 3 tetes indikator pp dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 M yang telah distandarisasi dengan larutan asam oksalat. Total asam laktat dihitung dengan menggunakan Persamaan 1.

$$X = \frac{V_1 \times M \times M}{V_2} \quad (1)$$

keterangan:

X = Kadar asam laktat (g/L)

V₁ =Volume larutan NaOH untuk titrasi (mL)

M = Molaritas larutan NaOH (M)

V₂ = Volume filtrat yang dititrasi (mL)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan awal kulit buah kakao

Komposisi kimia kulit buah kakao tercantum dalam Tabel 1. Pada penelitian ini diperoleh data bahwa kadar selulosa dan hemiselulosa kulit buah kakao lebih kecil dari hasil penelitian Daud *et al.* (2013), namun kadar lignin jauh lebih besar. Tanaman kakao yang tumbuh di Asia termasuk Malaysia dan Indonesia adalah species Trinitario. Perbedaan komposisi kimia disebabkan oleh perbedaan habitat tanaman kakao, dimana pada penelitian ini tanaman kakao berasal dari Daerah Tangkisan, Kulonprogo, DIY, Indonesia, sedangkan pada penelitian Daud *et al.* (2013) tanaman kakao berasal dari Pusat Pembangunan Komoditi, Parit Botak, Jabatan Pertanian Malaysia. Secara umum, semua dinding sel tumbuhan terutama tersusun atas polimer berbasis gula (karbohidrat) yang terikat pada lignin dengan sejumlah kecil ekstraktif, protein amilum dan anorganik. Komposisi kimia bahan tumbuhan berbeda tergantung pada lokasi geografis, iklim, umur dan komposisi tanah, bahkan komposisi bagian-bagian tumbuhan yang berasal dari satu tumbuhan yang sama dapat berbeda (Daud *et al.* 2013).

Studi morfologi permukaan suatu bahan dipelajari dengan menggunakan SEM. SEM diperlukan untuk mengetahui distribusi dan susunan serat dari kulit buah kakao pada berbagai tingkat perbesaran seperti ditunjukkan pada Gambar 1. Permukaan kulit buah kakao tersusun atas partikel berbentuk lamela dan memiliki susunan fibril linier. Susunan yang rapat menunjukkan kulit buah kakao memiliki kadar lignoselulosa yang tinggi (a). Lamela ini tersusun atas serat-serat yang menyebabkan lapisan permukaan kulit buah kakao menjadi tebal dan kasar (b). Lapisan yang tebal dan kasar berfungsi untuk melindungi kandungan lignoselulosa di dalam serat. Permukaan kulit buah kakao merupakan partikel yang tidak seragam yang menunjukkan lignoselulosa tersusun atas berbagai senyawa yaitu lignin, selulosa dan hemiselulosa, dan terdapat juga zat ekstraktif lain seperti pektin dan polifenol (Daud *et al.* 2013).

Tabel 1. Perbandingan komposisi kimia kulit buah kakao

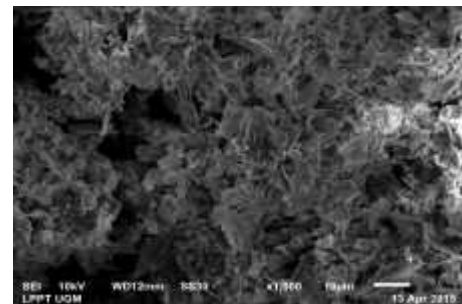
Komponen	Kulit buah kakao penelitian ini	Kulit buah kakao Daud <i>et al.</i> 2013
Hemiselulosa(%)	23,36	37,0
Selulosa(%)	24,51	35,4
Lignin(%)	30,46	14,7

Delignifikasi

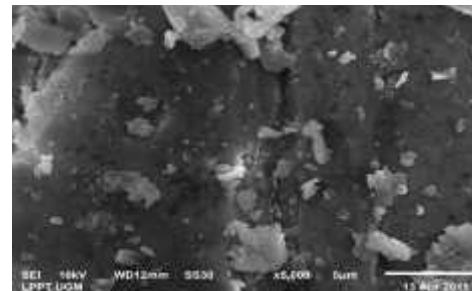
Hubungan antara pengaruh berbagai kadar NaOH terhadap kadar lignin, selulosa dan hemiselulosa kulit buah kakao disajikan dalam Gambar 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh kadar NaOH terhadap komposisi kimia kulit buah kakao adalah semakin tinggi kadar NaOH semakin menurunkan kadar lignin dan hemiselulosa dan semakin menaikkan kadar selulosa. Kadar optimal NaOH untuk proses delignifikasi kulit buah kakao adalah 6%, yang mampu mengurangi kadar lignin dari 30,46% menjadi 24,64% dan hemiselulosa dari 23,36% menjadi 14,21%. dengan presentase penurunan masing-masing sebesar 19,11% dan kadar 39,17%. Gunam *et al.* (2011) telah melakukan delignifikasi ampas tebu dengan larutan NaOH yang mendapatkan kadar NaOH optimal adalah 6% dengan presentase penurunan lignin dan hemiselulosa masing-masing 32,11% dan 42,87%.

Persentase penurunan kadar lignin pada ampas tebu lebih besar daripada kulit buah kakao, sedangkan penurunan kadar hemiselulosa relatif hampir sama. Delignifikasi pada lignoselulosa dengan kadar lignin yang sama, tetapi sumbernya berbeda membutuhkan kadar NaOH yang berbeda. NaOH dapat memutus ikatan antara selulosa dan hemiselulosa dengan lignin, juga dapat memutus ikatan di dalam lignin itu sendiri. Ikatan yang terputus adalah ikatan hidrogen yang menghubungkan antara lignin dengan selulosa maupun hemiselulosa serta ikatan antara lignin dan hemiselulosa yang berupa gugus eter maupun ester. NaOH juga dapat memutus ikatan di dalam senyawa lignin yang terdiri atas gugus eter dan ikatan karbon-karbon menjadi fragmen-fragmen lignin (Lebo *et al.* 2001). Pemutusan salah satu ikatan antara selulosa dan lignin dideskripsikan pada Gambar 3. Reaksi dengan NaOH juga menyebabkan putusnya ikatan di dalam senyawa lignin yang menyebabkan molekul lignin terdegradasi. Degradasi lignin diawali oleh penyerangan atom H yang terikat pada gugus OH fenolik oleh ion hidroksi (OH) dari NaOH (Gambar 4). Adanya

lignin yang terlarut ditandai dengan larutan yang berwarna hitam pekat. Warna hitam ini timbul sebagai indikasi terlarutnya senyawa-senyawa yang memiliki gugus kromofor yaitu gugus yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi yang menyebabkan suatu senyawa dapat menyerap cahaya dengan panjang gelombang 200 nm sampai dengan 400 nm (UV).

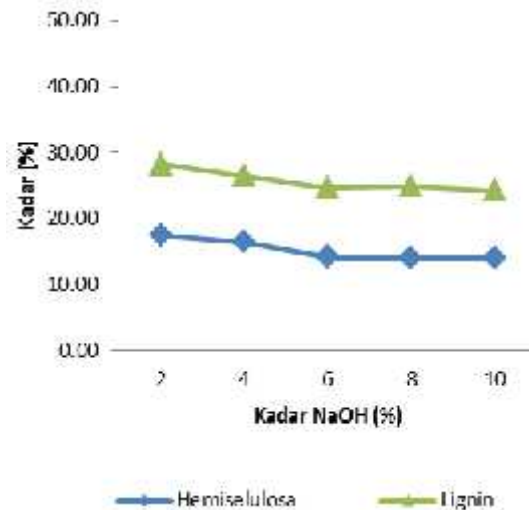


(a)



(b)

Gambar 1. Profil SEM kulit buah kakao a) perbesaran 1000x, b) perbesaran 5000x



Gambar 2. Pengaruh kadar NaOH terhadap komposisi kimia kulit buah kakao

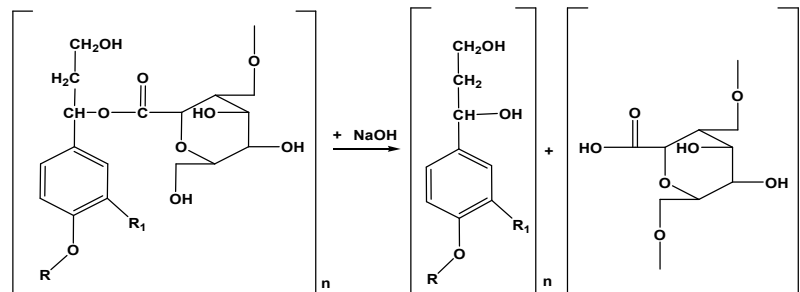
Proses delignifikasi juga dapat mengurangi kadar hemiselulosa karena hemiselulosa lebih mudah larut dalam basa. Molekul hemiselulosa yang larut adalah molekul rantai pendek dan rantai cabang serta terjadinya asetilasi pada gugus substituen hemiselulosa, sedangkan ikatan glikosidik intramolekul hemiselulosa sulit dipecahkan (Peng *et al.* 2012)

Hidrolisis Asam

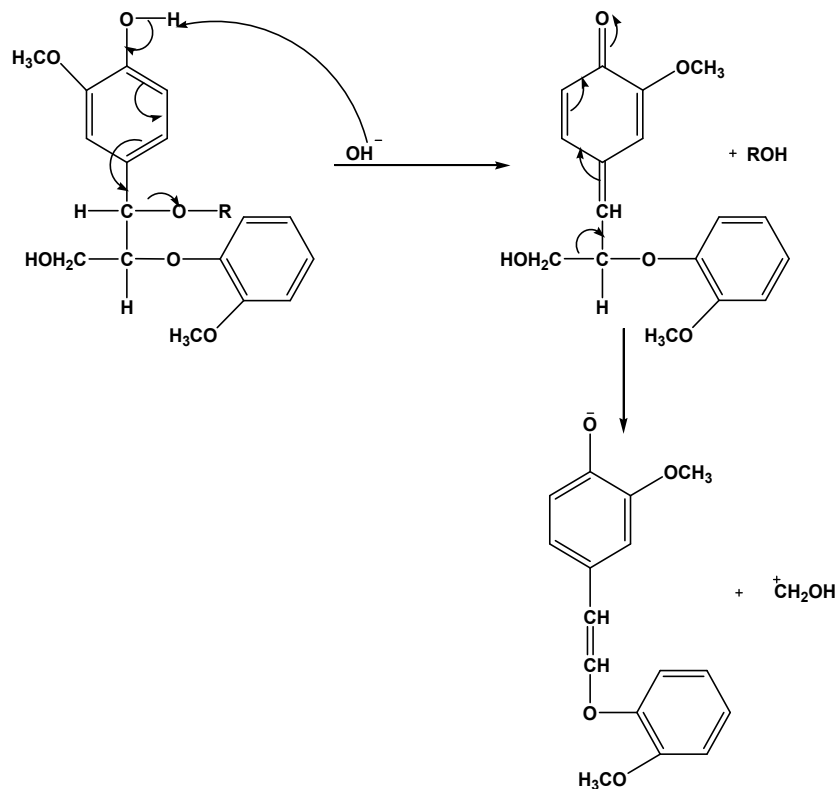
Reaksi hidrolisis selulosa dengan katalis asam secara umum digambarkan pada Gambar 5.

Pengaruh konsentrasi asam, suhu dan waktu terhadap hidrolisis asam disajikan berturut-turut pada Gambar 6, Gambar 7 dan

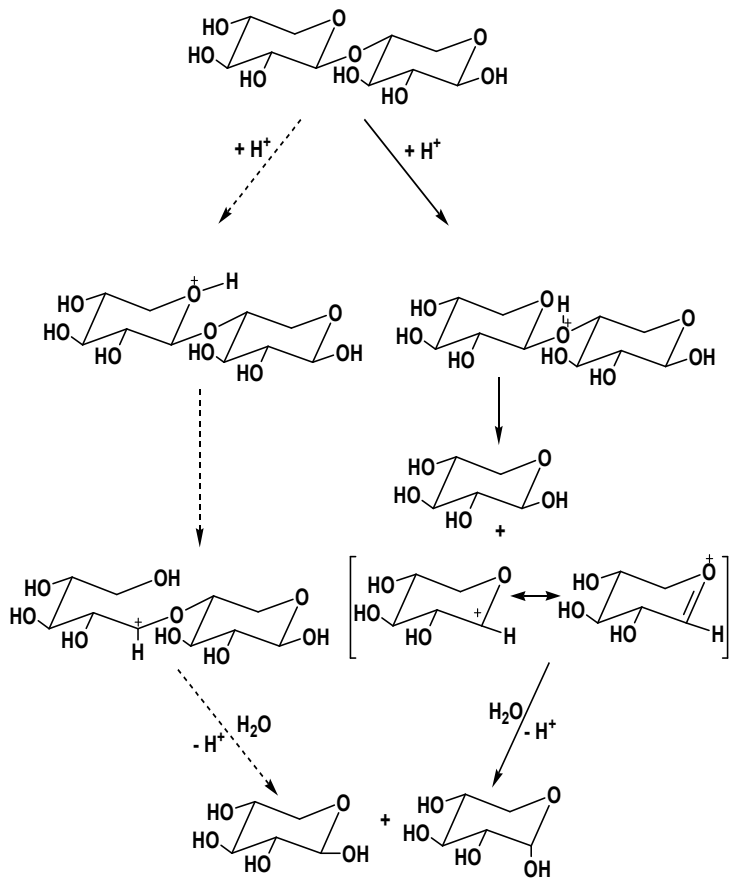
Gambar 8. Hubungan antara konsentrasi asam dengan kadar glukosa hasil hidrolisis adalah semakin tinggi konsentrasi H₂SO₄ maka semakin tinggi pula kadar glukosa yang dihasilkan hingga mencapai optimum pada konsentrasi H₂SO₄ 2,0%. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas katalitik sebanding dengan konsentrasi H⁺. Semakin banyak ion hidrogen di dalam larutan, maka reaksi hidrolisis yang terjadi akan semakin cepat, pemutusan ikatan glikosidik semakin meningkat dan glukosa yang terbentuk akibat degradasi selulosa semakin banyak. Hemiselulosa dapat terdegradasi menjadi glukosa maupun xylosa, namun pada penelitian ini xylosa yang terbentuk tidak diamati (Laopaiboon 2010).



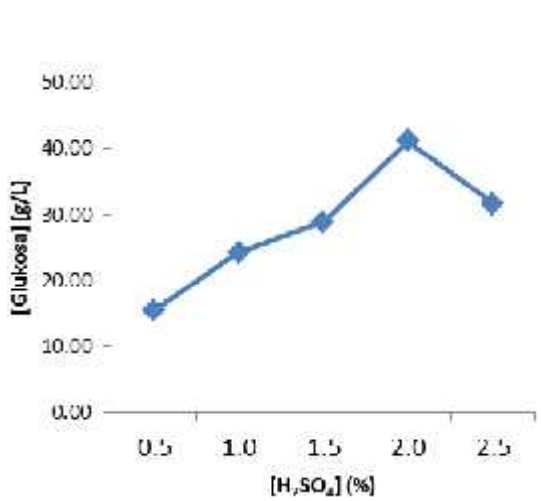
Gambar 3 Reaksi pemutusan ikatan lignin dengan selulosa (Fengel dan Wegener 1995)



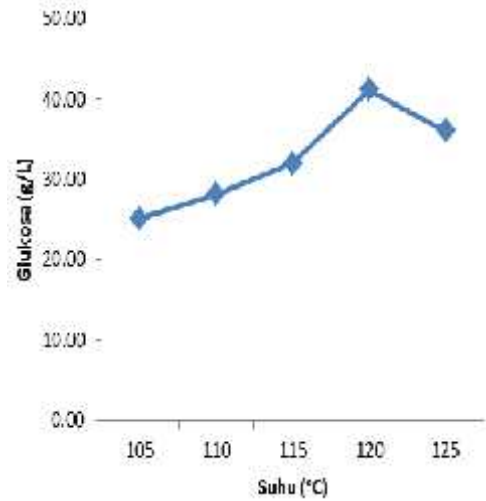
Gambar 4. Mekanisme degradasi lignin



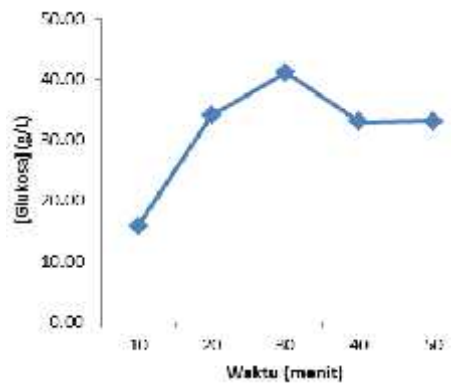
Gambar 5. Reaksi hidrolisis selulosa dengan katalis asam (Xiang *et al.* 2003)



Gambar 6. Pengaruh konsentrasi H₂SO₄ pada hasil hidrolisis asam



Gambar 7. Pengaruh suhu pada hidrolisis asam



Gambar 8. Pengaruh waktu reaksi hidrolisis

Kenaikan suhu mengakibatkan kenaikan glukosa hasil hidrolisis. Proses hidrolisis pada suhu 120°C menghasilkan kadar glukosa tertinggi dan terendah pada suhu 105°C. Kenaikan kadar glukosa hasil hidrolisis akibat kenaikan temperatur ini sesuai dengan persamaan Arrhenius $k = A.e^{-E_a/RT}$ yang menunjukkan semakin tinggi temperatur, nilai konstanta laju reaksi hidrolisis akan semakin besar (Xiang *et al.* 2003). Pengaruh waktu reaksi terhadap hidrolisis asam menunjukkan bahwa semakin lama waktu reaksi mengakibatkan kenaikan glukosa hasil hidrolisis, namun menurun setelah mencapai optimum. Kadar glukosa optimum dicapai pada waktu hidrolisis 30 menit, pada waktu 40 menit dan 50 menit terjadi penurunan kadar glukosa. Pada waktu reaksi yang lebih lama, konsentrasi asam yang tinggi dan suhu lebih dari 55°C dapat terjadi deformasi glukosa menjadi hidroksi metil furfural dan xylosa menjadi furfural (Laopaiboon 2010). Produk samping lain yang mungkin terbentuk adalah asam asetat dan asam format. Asam asetat terutama dapat terbentuk dari degradasi hemiselulosa *glucorooxylan*. Asam format bisa terbentuk akibat degradasi furfural dan hidroksi metil furfural (Lee *et al.* 2011).

Hasil optimasi proses hidrolisis asam menunjukkan bahwa kondisi optimum hidrolisis adalah konsentrasi asam sulfat 2%, suhu 120°C dan waktu 30 menit. Hasil analisa komponen LCM kulit buah kakao sebelum dan setelah proses hidrolisis ditunjukkan pada Tabel 2. Data ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis yang dilakukan dapat memecah sebagian besar hemiselulosa dan sedikit selulosa. Selulosa kristalin lebih stabil daripada selulosa yang berstruktur *amorf* sehingga sulit terhidrolisis. Hemiselulosa lebih mudah terhidrolisis menjadi komponen penyusunnya seperti pentosa (xylosa, arabinosa), heksosa (mannosa, glukosa, galaktosa), dan gula asam (asam

glukoronat dan asam galakturonat) karena struktur hemiselulosa berupa rantai cabang dan bersifat *amorf* (Tahezad dan Karimi 2007). Lignin cenderung lebih stabil terhadap asam.

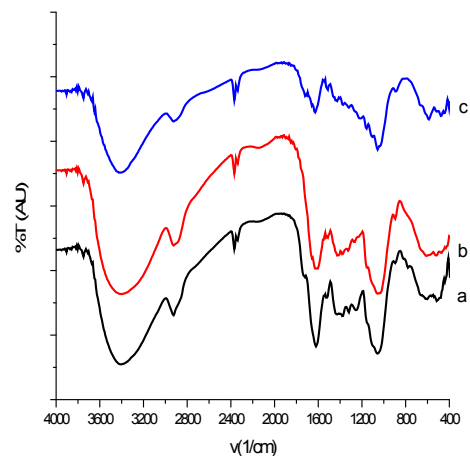
Karakterisasi dengan spektrofotometer IR

Karakterisasi dengan FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus-gugus fungsional yang terdapat dalam serbuk kulit buah kakao (Kakao), kulit buah kakao terdelignifikasi (Kakao-D) dan kulit buah kakao setelah proses hidrolisis asam (Kakao-H). Spektra IR ketiga bahan tersebut disajikan pada Gambar 9.

Berdasarkan spektra infra merah kakao yang dihasilkan, pita serapan lignin terdapat pada 1620, 21 cm⁻¹ dan 1519,91 cm⁻¹ yang menunjukkan serapan gugus C=C ulur dari cincin aromatik, serapan gugus C-O fenolik pada daerah 1219,01 cm⁻¹ dan serapan gugus OH pada daerah 3410,15 cm⁻¹. Pita serapan selulosa ditunjukkan oleh adanya serapan gugus C-H sp³ tekuk pada daerah 2924,09 cm⁻¹ dan 1381,03 cm⁻¹, serapan gugus CH₂ kibasan pada daerah 1319,31 cm⁻¹, serapan gugus COC asimetri pada daerah 1055,99 cm⁻¹ dan serapan cincin asimetri keluar bidang pada daerah 894,97 cm⁻¹. Serapan gugus CO ulur pada daerah 1257,57 cm⁻¹ berasal dari lignin dan hemiselulosa (Lionetto *et al.* 2015).

Tabel 2. Perbandingan komponen kimia sebelum dan setelah hidrolisis

Komponen	Kulit buah kakao awal	Kulit buah kakao setelah delignifikasi	Kulit buah kakao setelah hidrolisis
Hemiselulosa(%)	23,36	14,21	4,39
Selulosa(%)	24,51	39,95	37,07
Lignin(%)	30,46	24,64	24,08



Gambar 9. Spektra IR a) Kakao, b) Kakao-D, c) Kakao H

Spektra IR dari kulit buah kakao terdelignifikasi menunjukkan adanya pergeseran puncak serapan dari beberapa gugus fungsi seperti yang terlihat pada Gambar 6 dan secara lebih detail tertuang pada Tabel 4 antara lain: gugus OH bergeser dari 3410,15 cm⁻¹ ke 3402,43 cm⁻¹, gugus C=C ulur dari 1519,91 cm⁻¹ ke 1512,19 cm⁻¹ dan gugus CO ulur dari 1257,59 cm⁻¹ ke 1265,3 cm⁻¹ yang disebabkan oleh adanya perubahan pada lignin, selulosa dan hemiselulosa. Hal ini didukung data terjadi sedikit penurunan kadar lignin dan hemiselulosa dan kenaikan kadar selulosa.

Proses hidrolisis yang dilakukan pada kulit buah kakao terdelignifikasi juga mengakibatkan terjadinya pergeseran spektra. Serapan gugus C-H tekuk bergeser dari 1381,03 cm⁻¹ ke 1373,32 cm⁻¹, serapan dari cincin asimetri keluar bidang bergeser dari 894,97 cm⁻¹ ke 887,26 cm⁻¹ menunjukkan terjadinya perubahan pada selulosa. Hilangnya puncak serapan CO ulur pada daerah 1265,3 cm⁻¹ menunjukkan terjadinya perubahan signifikan pada hemiselulosa. Hal ini didukung data bahwa proses hidrolisis mengakibatkan

sedikit penurunan selulosa dan penurunan hemiselulosa yang signifikan.

Karakterisasi dengan XRD

Karakterisasi dengan XRD bertujuan untuk mengetahui struktur selulosa pada kulit buah kakao karena selulosa tersusun atas struktur amorf dan kristalin. memiliki dua puncak yang spesifik di 2θ = 15,7° dan 22,5° (Rodiansono *et al.* 2013). Kedua puncak mengindikasikan berturut-turut bagian amorf dan kristalin. Indek kristalinitas dihitung berdasarkan Persamaan 2 yang diajukan oleh Segal *et al.* (1959) dalam Rodiansono *et al.* (2013):

$$X_{CR} = \frac{I_{200} - I_{AM}}{I_{AM}} \quad (2)$$

keterangan:

X_{CR} = Kristalinitas sampel

I₂₀₀ = Intensitas bagian kital selulosa (2θ = 22,5°)

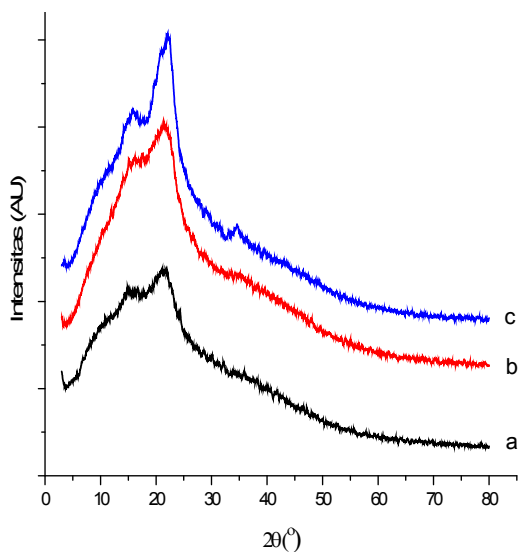
I_{AM} = Intensitas bagian amorf selulosa (2θ = 15,7°)

Tabel 4. Serapan Infra Merah Serbuk Kulit Buah Kakao

Bilangan gelombang (cm ⁻¹)			Gugus Fungsi	Indikasi
Kakao	Kakao-D	Kakao-H		
3410,15	3402,43	3410,15	Vibrasi ulur gugus O-H	Lignin
2924,09	2924,09	2924,09	C-H sp ³	Selulosa
1620,21	1620,21	1627,92	C=C ulur cincin aromatik	Lignin
1519,91	1512,19	1512,19	C=C ulur cincin aromatik	Lignin
1381,03	1381,03	1373,32	C-H tekuk	Selulosa
1319,31	1327,03	1319,31	CH ₂ kibasan	Selulosa
1257,59	1265,3	-	CO ulur	Lignin dan hemiselulosa
1219,01	1219,01	1219,01	C-O fenolik	Lignin
1056,99	1056,99	1056,99	COC asimetri jembatan oksigen	Selulosa
894,97	894,97	887,26	Cincin asimetri keluar bidang	Selulosa

Pola XRD dari serbuk kulit buah kakao (Kakao), kulit buah kakao terdelignifikasi (Kakao-D) dan kulit buah kakao disajikan pada Gambar 10 dan indeks kristalinitas sampel disajikan dalam Tabel 5.

Data menunjukkan terjadi penurunan indeks kristalinitas dari kakao setelah proses delignifikasi dan terjadi peningkatan indeks kristalinitas setelah proses hidrolisis. Kadar lignin dan hemiselulosa yang tinggi pada kulit buah kakao mengakibatkan kulit buah kakao memiliki kristalinitas rendah. Hal ini disebabkan karena lignin dan hemiselulosa berstruktur amorf. Proses delignifikasi hanya dapat melarutkan sedikit lignin dan hemiselulosa, namun delignifikasi dapat sedikit menurunkan kristalinitas sampel. Kenaikan indeks kristalinitas pada kakao-H menunjukkan bahwa hidrolisis hanya dapat memecah sebagian besar hemiselulosa dan sedikit selulosa yang berstruktur amorf, sedangkan selulosa kristalin belum terhidrolisis. Hal ini didukung data kadar selulosa kulit buah kakao hasil hidrolisis masih tinggi.



Gambar 10. Pola XRD a) Kakao, b) Kakao-D, c) Kakao H

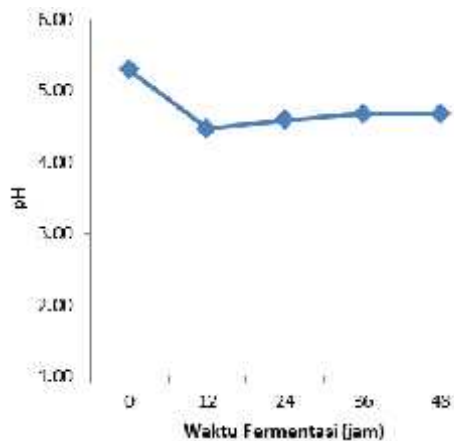
Tabel 5. Indeks kristalinitas

Sampel	I_{200} ($2\theta=22,5^\circ$)	I_{AM} ($2\theta=15,7^\circ$)	X_{CR} (%)
Kakao	70	24	65,71
Kakao-D	127	46	63,78
Kakao-H	232	64	72,41

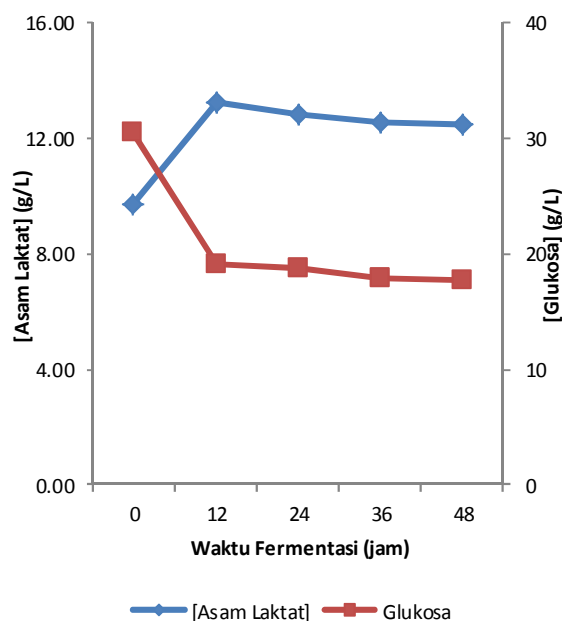
Fermentasi Asam Laktat

Data hasil fermentasi asam laktat dengan media *MRS* modifikasi yang mengandung glukosa hasil hidrolisis asam berupa pH disajikan pada Gambar 11. Penurunan glukosa dan peningkatan total asam laktat disajikan pada Gambar 12. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi penurunan pH dari waktu ke-0 sampai ke-12 kemudian mencapai stabil, seiring dengan penurunan kadar glukosa dan peningkatan kadar asam laktat. Penurunan pH terjadi dari pH 5,3 dan stabil pada pH sekitar 4,5 dimana asam laktat yang terbentuk tidak bertambah lagi. pH optimum pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* adalah 4,5-6,5 (Pelczar 1988), sehingga pada pH kurang dari 4,5 aktivitasnya berkurang yang ditunjukkan oleh tidak terjadinya peningkatan kadar asam laktat. Disamping itu, data menunjukkan bahwa aktivitas bakteri *L. plantarum* optimum pada waktu 12 jam. Hasil ini sejalan dengan data penelitian Indrarti *et al.* (2005) yang menunjukkan bahwa *L. plantarum* berada pada fasa log pertumbuhan pada rentang waktu 6-12 jam. Pada waktu selanjutnya *L. plantarum* mengalami fase lag yang ditandai dengan aktivitas yang rendah.

Kadar optimal asam laktat yang terbentuk sebesar 13,27 g/L (1,33%) dan glukosa yang dikonsumsi sebanyak 11,43 g/L. Fermentasi asam laktat dengan bakteri yang sama pada media *MRS* menghasilkan asam laktat sebesar 2,95% (Adesokan 2009). Hasil ini menunjukkan bahwa kualitas media *MRS* modifikasi dari glukosa hasil hidrolisis kulit buah kakao lebih rendah daripada media *MRS*.



Gambar 11. pH fermentasi asam laktat



Gambar 12. Kadar glukosa dan total asam laktat

Prosentase kadar asam laktat hasil penelitian ini hampir setara dengan fermentasi terhadap tepung jagung yang menghasilkan asam laktat 2,02% (Indrarti *et al.* 2005) dan singkong dengan kadar asam laktat 0,895% (Pratama *et al.* 2013). Namun jika dibandingkan dengan hasil fermentasi gula hasil hidrolisis bahan lignoselulosa ampas tebu dengan bakteri *Lactobacillus delbreuckii* yang menghasilkan 67,0 g/L asam laktat (Adsul *et al.* 2007) maupun limbah tongkol jagung menggunakan bakteri *L. plantarum* dengan kadar asam laktat 73,2 g/L (Okano *et al.* 2009), maka asam laktat yang dihasilkan dalam penelitian ini sangat kecil. Hal ini dapat terjadi dimungkinkan karena masih adanya senyawa inhibitor dalam media fermentasi. Senyawa inhibitor berupa produk

samping hidrolisis asam seperti asam asetat, furfural dan hidroksi metil furfural dapat mengganggu pertumbuhan mikroba karena dapat memasuki membran sel dan menurunkan pH antar sel sehingga mempengaruhi metabolisme mikroorganismenya (Chong *et al.* 2004). Hal ini mengakibatkan bakteri *L. plantarum* terhambat pertumbuhannya sehingga asam laktat yang dihasilkan sedikit.

KESIMPULAN

Konsentrasi optimum NaOH pada delignifikasi kulit buah kakao adalah 6%, sedangkan kondisi optimum hidrolisis asam adalah konsentrasi H_2SO_4 2,0%, suhu 120°C dan waktu 30 menit. Hidrolisis asam pada penelitian ini hanya dapat memecah hemiselulosa dan selulosa amorf menjadi monomernya, selulosa kristalin cenderung lebih stabil. Glukosa hasil hidrolisis asam digunakan sebagai media fermentasi dan menghasilkan asam laktat sebesar 13,27 g/L, namun memerlukan proses detoksifikasi untuk menghilangkan senyawa inhibitor yang dapat menghambat proses fermentasi. Disamping itu, perlu dilakukan optimasi proses fermentasi untuk meningkatkan kadar asam laktat yang dihasilkan. Penelitian ini membuka peluang untuk peningkatan nilai tambah kulit buah kakao dan penelitian awal menuju sintesis poli asam laktat yang diperlukan dalam pembuatan plastik *biodegradable*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Pusat Pendidikan dan Pelatihan Industri yang telah memberikan biaya penelitian dan Balai Besar Kulit Karet dan Plastik atas pemberian ijin penggunaan fasilitas laboratorium selama penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Adesokan, I.A., B.B. Odetoyinbo, and B.M. Okanlawon. 2009. Optimization of lactic acid production by lactic acid bacteria isolated from some traditional fermented food in nigeria. *Pakistan journal of nutrition* 8(5): 611-615.
- Adsul, M.G., A.J.Varma, and D.V. Gokhale. 2007. Lactic acid production from waste sugarcane bagasse derived cellulose. *green chemistry* 9: 58-62
- Albalasmeh, A.A., A.A. Berhe, and T.A.Ghezzehei. 2013. A New method for rapid determination of carbohydrate

- and total carbon concentrations using uv spectrophotometry. *Carbohydrate polymer* 97: 253– 261.
- Alemawor, F., V.P. Dzogbefia, E.O.K.Oddoye, and J.H. Oldham. 2009. Effects of pleurotus ostreatus fermentation of cocoa pod husk composition: influence of fermentation period and mn^{2+} supplementation on the fermentation process. *African journal of biotechnology* 8(9): 1950-1958.
- Cruz, G., M. Piriälä, M. Huuhtanen, L.Carrión, E. Alvarenga, and R.L. Keiski. 2012. Production of activated carbon from cocoa (theobroma cacao) pod husk. *Journal of civil environment engineering* 2(2): 1-6.
- Daud Z., A.S.M. Kassim, A.M. Aripin, H. Awang, and M.Z.M. Hatta. 2013. Chemical composition and morphological of cocoa pod husks and cassava peels for pulp and paper production. *Australian journal of basic applied science* 7(9): 406-411.
- Fengel, D. and G. Wegener. 1983. *Kayu: kimia, ultrastruktur, reaksi-reaksi*. terjemahan Sastrohamidjojo, H. 1995. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Gunam, I.B.W., N.M. Wartini, A.A.M.D. Anggraeni, dan P.M.Suparyana. 2011. Delignifikasi ampas tebu dengan larutan natrium hidroksida sebelum proses sakarifikasi secara enzimatik menggunakan enzim selulase kasar dari aspergillus niger FNU 6018. *Jurnal teknologi indonesia* 34: 24-32.
- Hofvendahl, K. and B. Hahn-Hagerdal. 2000. Factor affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme microbial technology* 26:87-107.
- Indrarti, L., E. Rahimi dan Tati. 2005. Biosintesis asam laktat sebagai bahan baku plastik biodegradabel. *Dalam: Prosiding simposium polimer nasional V*.
- Laopaiboon, P., A. Thani, V. Leelavatcharamas, and L.Laopaiboon. 2010. Acid hydrolysis of sugarcane bagasse for lactic acid production. *Bioresource technology* 101: 1036-1043.
- Lee, J. M., R.A. Venditti, H. Jameel, and W.R. Kenealy. 2011. Detoxification of woody hydrolyzates with activated carbon for bioconversion to ethanol by the thermophilic anaerobic bacterium thremoanaerobacterium saccharolyticum. *Biomass and bioenergy* 35: 626-636.
- Lebo, S. E., J.D. Gargulak, and T.J. McNally. 2001. *Lignin*. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. USA: John Wiley and sons, Inc.
- Lionetto, F., R. Del Sole, D. Cannoletta, G. Vasapollo, and A. Maffezoli. 2012. Monitoring wood degradation during weathering by cellulose crystallinity. *Materials* 5: 1910-1922.
- Nisa, D. dan W.D.R. Putri. 2014. Pemanfaatan selulosa dari kulit buah kakao (*theobroma cacao l.*) sebagai bahan baku pembuatan carboxymethyl cellulose (CMC). *Jurnal pangan dan agro* 2(3):34-42
- Okano, K., Q. Zhang, S. Shinkawa, S. Yoshida, T. Tanaka, H. Fukuda, and A. Kondo. 2009. Efficient production of optically pure d-lactic acid from raw corn starch by using a genetically modified l-lactate dehydrogenase gene-deficient and α -amylase-secreting lactobacillus plantarum strain. *Applied environmental microbiology* 75(2): 462–467.
- Pelczar, C. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press.
- Peng, F., P. Peng., F. Xu and R.C. Dan Sun. 2012. Fractional purification and bioconversion of hemicellulose. *Biotechnol. Adv.* 30: 879-903
- Pratama, A.Y., R.N. Febriani dan S.Gunawa. 2013. Pengaruh ragi roti, ragi tempe, dan *lactobacillus plantarum* terhadap total asam laktat dan ph pada fermentasi singkong. *Jurnal teknik pomits* 2(1):90-92.
- Pratiwi, P.Eka, M. Yatim, dan L. Edahwati. 2010, Pemanfaatan kulit buah cokelat sebagai bioetanol. *Dalam: Prosiding seminar nasional teknik kimia Soebardjo Brotohardjono IX*.
- Puastuti, W dan Susana IWR. 2014. Potensi dan Pemanfaatan kulit buah kakao sebagai pakan alternatif ternak ruminansia. *WARTAZOA* 24(3):151-159.
- Rahman, M.A.A., Y. Tashiro, and K. Sonomoto. 2011. Lactic acid production from lignocellulosic-derived sugars using lactic acid bacteria: overview and limits: review. *Journal of biotechnology* 156 (4): 286-301.
- Rahman, M.A.A., Y. Tashiro and K. Sonomoto. 2013. Recent advances in lactic acid production by microbial fermentation

- process: Review. *Biotechnology advance* 31(6): 877-902.
- Rodiansono, U.B.L. Utami, N. Widyastuti, P.C. Wulandari, dan I. Risnawati. 2013. Hidrolisis lignoselulosa dari tandan kosong kelapa sawit menggunakan katalis asam karboksilat. *Sains dan terapan kimia* 7(1): 60-71.
- Chong, A.R., J.A. Ramírez, G. Garrote and M. Vázquez. 2004. Hydrolysis of sugarcane bagasse using nitric acid: a kinetic assessment. *J. Food Eng.* 61(2): 143–152.
- Taherzadeh, M. J. and K. Karimi. 2007. Enzyme-based hydrolysis processes for ethanol from lignocellulosic material a review. *Bioresource* 2(4): 707-738.
- Wijaya, M.M. 2014. Pemanfaatan limbah kakao sebagai bahan baku produk pangan. Dalam: *Prosiding seminar nasional kimia dan pendidikan kimia VI UNS, Surakarta*.
- Xiang, Q., Y.Y. Lee, P.O. Pettersson, and R.W. Torget. 2003. Heterogeneous aspects of acid hydrolysis of a cellulose. *Applied biochemistry and biotechnology* :105-108.