

**SKRIPSI**

**PEMBUATAN ASAM LAKTAT DENGAN METODE FERMENTASI  
SUBSTRAT CAIR MENGGUNAKAN *Rhizopus oryzae* DAN  
*Lactobacillus casei***



Diajukan oleh :

Nico Tandiono	5203012032
Aloysius Handy Wibowo	5203014031

**JURUSAN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNIK  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA  
SURABAYA  
2015**

## LEMBAR PENGESAHAN

Seminar **SKRIPSI** bagi mahasiswa tersebut dibawah ini:

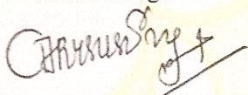
Nama : Nico Tandiono

NRP : 5203012032

Telah diselenggarakan pada tanggal 17 Desember 2015, karenanya yang bersangkutan dapat dinyatakan telah memenuhi sebagian persyaratan kurikulum guna memperoleh gelar **Sarjana Teknik** jurusan **Teknik Kimia**.

Surabaya, 22 Desember 2015

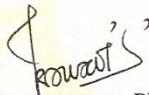
Pembimbing I



Ery Susiany R. ST., MT.

NIK. 521.98.0348

Pembimbing II

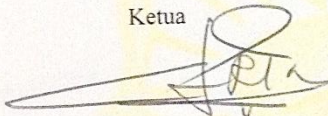


Wenny Irawaty, Ph.D.

NIK 521.97.0284

### Dewan Penguji

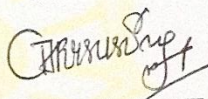
Ketua



Dra. Adriana A. Anggorowati, M.Si

NIK 521.86.0124

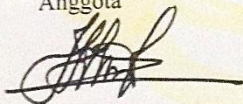
Sekretaris



Ery Susiany R. ST., MT.

NIK. 521.98.0348

Anggota



Dr. Ir., Suratno L., MS.

NIK. 521.87.0127

Anggota

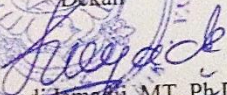


Sandy Budi H., Ph.D.

NIK. 521.99. 0401

Mengetahui

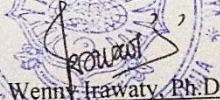
Fakultas Teknik  
Dekan



Ir. Suryadi Ismaji, MT, Ph.D.

NIK 521.93.0198

Jurusan Teknik Kimia  
Ketua



Wenny Irawaty, Ph.D.

NIK 521.97.0284

## LEMBAR PENGESAHAN

Seminar SKRIPSI bagi mahasiswa tersebut dibawah ini:

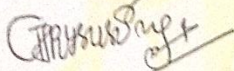
Nama : Aloysius Handy Wibowo

NRP : 5203014031

Telah diselenggarakan pada tanggal 17 Desember 2015, karenanya yang bersangkutan dapat dinyatakan telah memenuhi sebagian persyaratan kurikulum guna memperoleh gelar Sarjana Teknik jurusan Teknik Kimia.

Surabaya, 22 Desember 2015

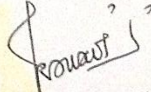
Pembimbing I



Ery Susiany R. ST., MT.

NIK. 521.98.0348

Pembimbing II

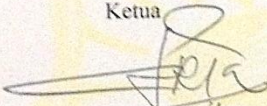


Wenny Irawaty, Ph.D

NIK 521.97.0284

Dewan Penguji

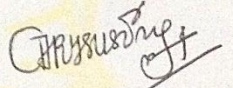
Ketua



Dra. Adriana A. Anggorowati, M.Si

NIK 521.86.0124

Sekretaris



Ery Susiany R. ST., MT.

NIK. 521.98.0348

Anggota



Dr. Ir. Suratno L., MS.

NIK. 521.87.0127

Anggota



Sandy Budi H, Ph.D.

NIK. 521.99. 0401

Mengetahui

Fakultas Teknik  
Dekan



Ir. Suryadi Ismadiji, MT, Ph.D.

NIK 521.93.0198

Jurusan Teknik Kimia  
Ketua



Wenny Irawaty, Ph.D

NIK 521.97.0284



## LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya sebagai mahasiswa Unika Widya Mandala Surabaya:

Nama : Nico Tandiono  
NRP : 5203012032

Menyetujui skripsi/karya ilmiah saya:

Judul:  
Pembuatan Asam Laktat dengan Metode Fermentasi Substrat Cair  
Menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus casei*

Untuk dipublikasikan/ditampilkan di internet atau media lain (Digital Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya) untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 22 Desember 2015

Menyatakan



(Nico Tandiono)  
NRP. 5203012032

**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya sebagai mahasiswa Unika Widya Mandala Surabaya:

Nama : Aloysius Handy Wibowo  
NRP : 5203014031

Menyetujui skripsi/karya ilmiah saya:


Judul:  
Pembuatan Asam Laktat dengan Metode Fermentasi Substrat Cair Menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus casei*

Untuk dipublikasikan/ditampilkan di internet atau media lain (Digital Library Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya) untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 22 Desember 2015

Saya menyatakan



(Aloysius Handy Wibowo)  
NRP. 5203014031

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan hasil karya orang lain, baik sebagian maupun seluruhnya, kecuali dinyatakan dalam teks. Seandainya diketahui bahwa skripsi ini ternyata merupakan hasil karya orang lain, maka saya sadar dan menerima konsekuensi bahwa skripsi ini tidak dapat digunakan sebagai syarat untuk memperoleh gelar **Sarjana Teknik**.

Surabaya, 22 Desember 2015

Mahasiswa,



Nico Tandiono

NRP. 5203011032

## LEMBAR PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan hasil karya orang lain, baik sebagian maupun seluruhnya, kecuali dinyatakan dalam teks. Seandainya diketahui bahwa skripsi ini ternyata merupakan hasil karya orang lain, maka saya sadar dan menerima konsekuensi bahwa skripsi ini tidak dapat digunakan sebagai syarat untuk memperoleh gelar **Sarjana Teknik**.

Surabaya, 22 Desember 2015

Mahasiswa,



Aloysius Handy Wibowo

NRP. 5203014031

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Pembuatan Asam Laktat dengan Metode Fermentasi Substrat Cair Menggunakan *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus casei*". Skripsi ini merupakan salah satu prasyarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

Terselesainya skripsi ini tentunya tak lepas dari bantuan serta dukungan baik secara materi maupun moral dari banyak pihak. Maka dari itu penulis ingin mengucapkan banyak terima kasih dan penghargaan kepada:

1. Ibu Ery Susiany Retnoningtyas, ST., MT. dan Ibu Wenny Irawaty, Ph.D. selaku pembimbing skripsi yang telah memberikan arahan, saran, kritik, waktu dan semangat selama penyusunan skripsi;
2. Ibu Dra. Adriana Anteng Anggorowati, M.Si., Bapak Dr. Ir. Suratno Lourentius, MS. dan Bapak Sandy Budi Hartono, Ph.D. selaku penguji atas saran dan kritik yang membangun;
3. Para Ketua Laboratorium atas izinnya untuk menggunakan fasilitas sarana-prasarana laboratorium Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya;
4. Bpk. Novi selaku laboran pada Laboratorium Kimia Organik Jurusan Teknik Kimia; Bpk. Pujo selaku laboran pada Laboratorium Operasi Teknik Kimia; dan Bpk. Agus selaku laboran pada Laboratorium Teknologi Bioproses Jurusan Teknik Kimia, yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian ini;



5. Ibu Wenny Irawaty, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya;
6. Bapak Suryadi Ismadji, Ph.D selaku Dekan Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya;
7. Orang tua penulis yang senantiasa mendukung selama penyusunan skripsi;
8. Rekan-rekan mahasiswa atas dukungan, semangat dan masukan yang membangun selama penyusunan skripsi;
9. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebut satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap agar skripsi ini dapat memberikan kontribusi yang berarti bagi ilmu pengetahuan serta bermanfaat bagi banyak pihak. Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini baik dalam hal materi serta teknik penyajiannya. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Terima kasih.

Surabaya, 22 Desember 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN .....	ii
LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	
KARYA ILMIAH.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN.....	vi
KATA PENGANTAR .....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
INTISARI .....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang .....	1
I.2. Perumusan Masalah.....	2
I.3. Tujuan Penelitian.....	3
I.4. Pembatasan Masalah .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	4
II.1. Asam Laktat .....	4
II.2. Pembuatan Asam Laktat.....	5
II.3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Proses Fermentasi.....	9
II.4. Kinetika Reaksi .....	11
II.5. <i>Rhizopus Oryzae</i> .....	13
II.6. <i>Lactobacillus Casei</i> .....	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN .....	18
III.1. Rancangan Penelitian .....	18
III.2. Variabel Penelitian .....	19
III.2.1. Variabel Tetap .....	19
III.2.2. Variabel Tidak Tetap.....	20
III.3. Bahan.....	20
III.4. Alat .....	21
III.5. Prosedur Penelitian .....	22
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	26
IV.1. Pengaruh Variasi Jenis Mikroorganisme terhadap Konstrasi Biomassa, Konsentrasi Asam Laktat, dan Konsentrasi Glukosa.....	27
IV.2. Pengaruh Jenis Mikroorganisme terhadap laju Pertumbuhan Maksimum dan Yield .....	34
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	36
V.1. Kesimpulan.....	36
V.2. Saran.....	37
DAFTAR PUSTAKA .....	38

LAMPIRAN A .....	40
A.1 Pembuatan Reagen DNS sebanyak 100 mL .....	40
A.2 Pembuatan Larutan Garam Fisologis sebanyak 200 mL .....	40
A.3 Pembuatan suspensi spora sebanyak 5 mL .....	40
A.4 Pembuatan media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA) sebanyak 500 mL.....	41
A.5 Pembuatan media de Man Rogosa and Sharpe agar (MRS agar) sebanyak 500 mL.....	41
A.6 Pembuatan <i>Oxidizing reagent</i> sebanyak 50 mL .....	41
A.7 Pembuatan Alkalizing Reagent .....	43
A.8 Pembuatan larutan asam nitrit 0,6 M sebanyak 10 mL.....	44
A.9 Pembuatan larutan $C_2H_6N_4O_2$ 0,005 M sebanyak 50 mL .....	44
LAMPIRAN B.....	45
B.1 Analisa Kandungan Glukosa dengan Metode DNS.....	45
B.2 Pembuatan Larutan Induk Glukosa 1000 mg/L sebanyak 100 mL.....	45
B.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Glukosa.....	45
B.4 Kurva Baku Glukosa .....	47
B.5 Analisa Kandungan Glukosa .....	48
LAMPIRAN C.....	53
C.1 Analisa Kandungan Asam Laktat dengan Metode Baker and Summerson .....	53
C.2 Pembuatan Larutan Induk Asam Laktat Standard 100 mg/L sebanyak 25 mL.....	53
C.3 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Asam laktat .....	53
C.4 Kurva Baku Asam Laktat .....	55
C.5 Analisa Kandungan Asam Laktat .....	56
LAMPIRAN D .....	61
LAMPIRAN E.....	63

## DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Mikroorganisme yang digunakan untuk menghasilkan asam laktat .....	10
Tabel II.2 Penelitian Terdahulu tentang Produksi Asam Laktat .....	17
Tabel IV.1 Laju pertumbuhan maksimum dan perolehan yield dengan berbagai mikroorganisme.....	34
Tabel B.1 Hasil pembacaan absorbansi larutan glukosa 300 mg/L pada berbagai macam panjang gelombang.....	46
Tabel B.2 Hasil pembacaan absorbansi kurva standar larutan glukosa .....	47
Tabel B.3 Hasil perhitungan konsentrasi glukosa hasil fermentasi menggunakan <i>Rhizopus oryzae</i> .....	50
Tabel B.4 Hasil perhitungan konsentrasi glukosa hasil fermentasi menggunakan <i>Lactobacillus casei</i> .....	51
Tabel B.3 Hasil perhitungan konsentrasi glukosa hasil fermentasi menggunakan Campuran ( <i>Rhizopus oryzae</i> dan <i>Lactobacillus casei</i> ).....	52
Tabel C.1 Hasil pembacaan absorbansi larutan asam laktat 30 mg/L pada berbagai macam panjang gelombang .....	54
Tabel C.2 Hasil pembacaan absorbansi kurva standar larutan asam laktat .....	55
Tabel C.3 Hasil perhitungan konsentrasi asam laktat hasil fermentasi menggunakan <i>Rhizopus oryzae</i> .....	58
Tabel C.4 Hasil perhitungan konsentrasi asam laktat hasil fermentasi menggunakan <i>Lactobacillus casei</i> .....	59
Tabel C.5 Hasil perhitungan konsentrasi asam laktat hasil fermentasi menggunakan Campuran ( <i>Rhizopus oryzae</i> dan <i>Lactobacillus casei</i> ).....	60
Tabel D.1 Hasil analisa biomassa fermentasi glukosa menjadi asam laktat .....	62
Tabel E.1 Hasil fermentasi glukosa menjadi asam laktat menggunakan <i>Rhizopus oryzae</i> suhu 30°C .....	64
Tabel E.2 Hasil Perhitungan Menggunakan Metode <i>Least square</i> untuk <i>Rhizopus oryzae</i> pada suhu 30°C.....	65
Tabel E.3 Hasil fermentasi glukosa menjadi asam laktat menggunakan <i>Rhizopus oryzae</i> suhu 30°C .....	66
Tabel E.4 Hasil Perhitungan Menggunakan Metode <i>Least square</i> untuk <i>Rhizopus oryzae</i> pada suhu 37°C.....	67
Tabel E.5 Hasil fermentasi glukosa menjadi asam laktat menggunakan <i>Lactobacillus casei</i> suhu 30°C .....	68



Tabel E.6 Hasil Perhitungan Menggunakan Metode <i>Least square</i> untuk <i>Lactobacillus casei</i> pada suhu 30°C .....	69
Tabel E.7 Hasil fermentasi glukosa menjadi asam laktat menggunakan <i>Lactobacillus casei</i> suhu 37°C .....	70
Tabel E.8 Hasil Perhitungan Menggunakan Metode <i>Least square</i> untuk <i>Lactobacillus casei</i> pada suhu 37°C .....	71
Tabel E.9 Hasil fermentasi glukosa menjadi asam laktat menggunakan Campuran ( <i>Rhizopus oryzae</i> suhu 30°C dan <i>Lactobacillus casei</i> suhu 30°C).....	72
Tabel E.10 Hasil Perhitungan Menggunakan Metode <i>Least square</i> untuk Campuran ( <i>Rhizopus oryzae</i> suhu 30°C dan <i>Lactobacillus casei</i> 30°C) .....	73
Tabel E.11 Hasil fermentasi glukosa menjadi asam laktat menggunakan Campuran ( <i>Rhizopus oryzae</i> suhu 37°C dan <i>Lactobacillus casei</i> suhu 37°C).....	75
Tabel E.12 Hasil Perhitungan Menggunakan Metode <i>Least square</i> untuk Campuran ( <i>Rhizopus oryzae</i> suhu 37°C dan <i>Lactobacillus casei</i> 37°C) .....	76

## DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1 Jenis isomer asam laktat .....	4
Gambar II.2 Kegunaan Asam Laktat di berbagai bidang Industri .....	5
Gambar II.3 Proses Fermentasi Glukosa menjadi Asam Laktat secara Homofermentatif dan Heterofermentatif .....	7
Gambar II.4 Fase pertumbuhan mikroorganisme secara batch .....	13
Gambar II.5 Bagian-bagian <i>Rhizopus</i> .....	14
Gambar II.6 <i>Lactobacillus casei</i> .....	15
Gambar III.1 Skema Penelitian .....	19
Gambar IV.1 Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentasi biomassa hasil fermentasi suhu 30°C .....	27
Gambar IV.2 Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi biomassa hasil fermentasi suhu 37°C .....	28
Gambar IV.3 Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi asam laktat hasil fermentasi suhu 30°C .....	30
Gambar IV.4 Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi asam laktat hasil fermentasi suhu 37°C .....	31
Gambar IV.5 Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa sisa hasil fermentasi suhu 30°C .....	32
Gambar IV.6 Hubungan antara waktu fermentasi dan konsentrasi glukosa sisa hasil fermentasi suhu 37°C .....	33
Gambar B.1 Hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi larutan standar glukosa 300 mg/L .....	46
Gambar B.2 Hubungan kurva standar larutan glukosa .....	48
Gambar C.1 Hubungan antara panjang gelombang dan absorbansi larutan standar asam laktat 30 mg/L .....	54
Gambar C.2 Hubungan kurva standar larutan asam laktat .....	56

## INTISARI

Asam laktat atau *hidroxypropanoic acid* merupakan asam organik yang termasuk dalam asam multifungsi dan sering digunakan pada industri kosmetik, makanan, kimia, dan farmasi (Young-Jung et al, 2006). Tujuan dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh laju pertumbuhan maksimal dari dua jenis mikroorganisme terhadap asam laktat yang dihasilkan dan mempelajari kondisi terbaik dari dua jenis mikroorganisme terhadap *yield* asam laktat yang dihasilkan. Pada penelitian ini, untuk membuat asam laktat digunakan dua jenis mikroorganisme secara individu dan campuran yaitu jamur *Rhizopus oryzae* dan bakteri *Lactobacillus casei*.

Proses fermentasi dibagi menjadi dua tahap, tahap pertama adalah pembuatan substrat cair dengan penambahan nutrient. Tahap kedua dilakukan proses fermentasi selama 168 jam dan hasil fermentasi dianalisa kandungan glukosa sisa, analisa kandungan asam laktat dan kandungan biomassa.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa variasi mikroorganisme serta waktu fermentasi berpengaruh terhadap konsentrasi asam laktat, konsentrasi biomassa, dan konsentrasi glukosa (substrat) sisa. Laju pertumbuhan maksimum tertinggi diperoleh dengan penggunaan mikroorganisme campuran (*Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus casei*) pada suhu 37°C sebesar 0,0107 jam<sup>-1</sup> dengan suhu fermentasi 37°C. Yield biomassa yang dihasilkan sebesar 0,0004 g *dry weight*/g glukosa dan yield asam laktat sebesar 0,0120 g asam laktat/g glukosa..