

SINTESA ASAM LAKTAT BERBAHAN BAKU TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT MENGGUNAKAN *TRICHODERMA RESEI* DAN *LACTOBACILLUS ACIDIPHILUS*

Rahmayetty^{1*}, Dhena Ria Barleany², Anton Irawan³, Endang Suhendi⁴

^{1,2,3,4}Jurusan Teknik Kimia, Universitas Sultan ageng Tirtayasa, Cilegon,

Jl. Jend. Sudirman Km.3 Cilegon, 42435

*yettyfaith1@yahoo.com

ABSTRAK

Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) merupakan limbah pertanian dengan kadar selulosa yang tinggi, sehingga berpotensi untuk dikonversi menjadi berbagai macam produk. Salah satu senyawa kimia yang dapat dihasilkan dari selulosa TKKS adalah asam laktat. Asam laktat merupakan bahan baku utama dalam pembuatan polimer *biodegradable* berupa polilactic acid (PLA). Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi mikroorganisme *Lactobacillus acidophilus* yang dapat menghasilkan asam laktat dengan konsentrasi yang tinggi. Tahapan penelitian meliputi *pretreatment*, hidrolisis dan fermentasi. Pretreatment TKKS menggunakan NaOH, Tahap hidrolisis selama 48 jam menggunakan *Trichoderma reesei* 5 % (w/w) dan tahap fermentasi selama 48 jam menggunakan *Lactobacillus acidophilus* dengan variasi 0.5; 1; 3; 5%. Analisa glukosa menggunakan spektrofotometri dan asam laktat menggunakan *High performance liquid chromatography* (HPLC). Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan dari proses hidrolisis sebesar 16,6-17,9 g/L dan konsentrasi asam laktat tertinggi 0.568 g/L didapatkan dengan penambahan *Lactobacillus acidophilus* 3%

Kata kunci: *Lactobacillus acidophilus*, TKKS, *Trichoderma reesei*

ABSTRACT

Oil palm empty fruit bunches (EFB) is an agricultural waste containing high cellulose, so it has the potential to be converted into a wide variety of products. One of the chemical compounds that can be produced from EFB is lactic acid. Lactic acid is raw material in the manufacture of biodegradable polymers in the form of polylactic acid (PLA). This study aims to get the concentration of Lactobacillus acidophilus that can produce lactic acid with high concentration. Stages of research include pretreatment, hydrolysis and fermentation. EFB using NaOH pretreatment, hydrolysed for 48 hours using 5% (w/w) Trichoderma reesei and fermented by various concentration of Lactobacillus acidophilus (0.5; 1; 3; 5%). Glucose was analyzed by spectrophotometry method and Lactic acid was analyzed by High performance liquid chromatography (HPLC). The concentration of reducing sugar resulting from the hydrolysis of 16.6-17.9 g/L and the highest lactic acid concentration of 0.568 g/L obtained with the addition of Lactobacillus acidophilus 3%.

Keywords : *Lactobacillus acidophilus*, TKKS, *Trichoderma reesei*

PENDAHULUAN

Permasalahan lingkungan hidup yang dipicu oleh kegiatan hidup manusia sehari-hari terus meningkat. Salah satu indikatornya adalah penggunaan polimer sintetik dan bahan plastik berbasis minyak bumi menimbulkan masalah diantaranya berkurangnya sumber daya fosil dan residu limbah plastik yang tidak terdegradasi. Sistem

pengolahan limbah plastik umumnya melalui proses pembakaran dan daur ulang. Pembakaran plastik akan menghasilkan CO₂ (karbondioksida) yang memicu pencemaran udara dan mengakibatkan *global warming*, sedangkan proses daur ulang hanya menggunakan sekitar 25% dari jumlah sampah keseluruhan (Pudjiastuti dan Supeni, 2005). Upaya untuk mengatasi masalah tersebut, pada

saat ini penelitian mulai dikembangkan pada pemanfaatan sumber daya terbarukan untuk dikonversikan menjadi polimer *biodegradable* ramah lingkungan yang dapat menggantikan plastik konvensional berbahan dasar minyak bumi, salah satunya adalah polilaktida (PLA).

Polylactic acid (PLA) merupakan polimer yang berguna, *biodegradable*, alifatik poliester yang berasal dari 100 % sumber daya terbarukan (Lopes & Jardini, 2012). PLA dapat dijadikan alternatif pengganti polimer konvensional seperti polyethylene (PE), polypropylene (PP), polyethylene terephthalate (PET) dan polystyrene (PS) (Carrasco, 2010). PLA diperoleh dari asam laktat yang berasal dari gula, pati-patian, selulosa dan gliserin sisa biodiesel (Lasprilla,dkk.,2012). Selulosa merupakan biomassa yang sangat berlimpah.

Salah satu sumber selulosa yang sangat berlimpah di Indonesia adalah tandan kosong kelapa sawit. Setiap pengolahan 1 ton TBS (Tandan Buah Segar) akan dihasilkan Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS) sebanyak 22 – 23% atau sebanyak 220 – 230 kg. Menurut Sudayani, dkk (2013) komposisi kimiawi tandan kosong kelapa sawit adalah 37,26 % selulosa, 14,62% hemiselulosa, 31,68% lignin, 1,34% zat ekstraktif dan 6,69% abu (Sudiyani,dkk, 2013). Melihat kandungan selulosa dan hemiselulosa yang cukup tinggi, maka tandan kosong kelapa sawit mempunyai potensi yang besar sebagai sumber glukosa, dimana glukosa dapat dikonversikan menjadi asam laktat dan asam laktat dapat dipolimerisasi menjadi PLA (Poly lactic acid).

Asam laktat dapat dihasilkan melalui proses fermentasi atau secara sintesa kimiawi. Fermentasi merupakan metoda yang paling banyak digunakan oleh industri untuk menghasilkan asam laktat. Sekitar 90 % total produksi asam laktat di seluruh dunia dibuat melalui fermentasi oleh bakteri dan sisanya diproduksi secara sintetis melalui hidrolisis laktionitrile. Proses pembuatan asam laktat secara fermentasi memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan sintesis secara kimia yaitu biaya produksi rendah karena beroperasi pada temperatur rendah sehingga konsumsi energi pun rendah (John, dkk, 2007). Proses fermentasi untuk mendapatkan asam laktat dapat diklasifikasikan sesuai dengan jenis bakteri yang digunakan (Lopes & Jardini, 2012). Fermentasi bisa berlangsung dengan kondisi

anaerob atau aerob (Matsumoto & Taguchi,2010). Sumber karbon yang digunakan mikroba dalam memproduksi asam laktat dapat berupa gula dalam bentuk murni seperti glukosa, sukrosa, bahan laktosa atau gula yang mengandung molase, whey, ampas tebu, singkong ampas tebu, dan bahan tepung dari ubi, tepung, gandum dan barley. Bahan yang mengandung sukrosa seperti molase biasanya banyak digunakan sebagai bahan baku untuk produksi asam laktat dikarenakan harganya yang murah. Ampas tebu digunakan sebagai bahan baku untuk produksi asam laktat oleh *Rhizopus oryzae* dan *Lactobacillus* dalam fermentasi *solid-state* dengan menambah gula atau pati hidrolisat sebagai sumber karbon.

Hidrolisis TKKS menjadi glukosa dikatalisis oleh enzim selulase. Selulase dapat dihasilkan dari mikroorganisme diantaranya *Trichoderma reesei*, *T. longibractium*, *T. harzianum*, *T.pseudokongii*, *Aspergillus terreus*. Fermentasi glukosa dapat dilakukan oleh bakteri asam laktat dan beberapa jamur berfilamen. Organisme yang terutama menghasilkan isomer L adalah *amylophilus Lactobacilli*, *Lactobacilli bavaricus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus maltaromicus*, dan *Salivarius lactobacilli*. Strain seperti *Lactobacilli*, *Lactobacillus delbrueckii jensenii* dan *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan D-isomer atau campuran dari keduanya. Kisaran pH untuk memproduksi asam

Mukund G. Adsul, dkk, (2007), memproduksi asam laktat dari selulosa ampas tebu dengan menggunakan proses sakarifikasi dan fermentasi secara simultan menggunakan bakteri *Penicillium janthinellum* dan *Lactobacillus delbrueckii*. Konsentrasi asam laktat maksimum yang didapatkan adalah 67 gr/L dari 80 gr/L selulosa dari ampas tebu [6]. Rahmayetty, dkk (2013) memproduksi asam laktat dari TKKS dengan proses sakarifikasi-fermentasi simultan menggunakan jamur *Trichoderma reesei* dan bakteri *Lactobacillus delbrueckii*. Asam laktat yang didapatkan sebesar 49,701 ppm dari 100 gr TKKS. Kelemahan penggunaan sakarifikasi-fermentasi simultan adalah sulitnya pengontrolan pH dalam sistem proses.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya maka penelitian ini mengolah TKKS menjadi asam laktat

menggunakan hidrolisis dan fermentasi secara bertahap menggunakan *Trichoderma reesei* dan bakteri *Lactobacillus delbrueckii*.

METODE

Konversi TKKS menjadi asam laktat melalui tahapan pretreatment, hidrolisis, fermentasi dan pemurnian asam laktat.

Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian dimulai dengan inokulasi *Trichoderma reesei* yang berperan dalam mengubah selulosa menjadi glukosa dan *Lactobacillus delbrueckii* yang mengkonversikan glukosa menjadi asam laktat.

Inokulasi *Trichoderma reesei*

Trichoderma reesei ditumbuhkan pada cawat petri yang telah berisi medium PDA pada temperature 28°C selama 72 jam. Jamur yang tumbuh diambil dan dikembangkan dalam Erlenmeyer 250 ml yang berisi 100 ml Potato dextro broth. Inkubasi berlangsung pada temperature 30°C selama 24 jam pada shaker dengan putaran 150 rpm.

Inokulasi *Lactobacillus achidopillus*

Lactobacillus achidopillus ditumbuhkan dalam Erlenmeyer yang mengandung 100 ml MRS broth. Kultivasi berlangsung pada temperature 40°C selama 20 jam dengan putaran shaker 150 rpm.

Persiapan bahan baku dan karakteristik TKKS

TKKS dikeringkan dengan sinar matahari dan kemudian dicincang dengan ukuran partikel 1-3 mm. TKKS yang telah dicincing kemudian dihancurkan dengan menggunakan *crusher*. Kemudian dilakukan analisa selulosa dan lignin.

Pretreatment TKKS

TKKS sebanyak 5 gram yang telah dihancurkan dengan *crusher* dimasukkan ke dalam cawan dan dilakukan pretreatment dengan menambahkan air 10%b/b, NaOH 10%b/b. Pretreatment dilakukan pada temperatur 140-145°C selama 30 menit. Kemudian dilakukan pencucian dengan

menggunakan air dan dilakukan pemisahan antara padatan dan air dengan menggunakan vakum filtrasi. TKKS yang telah dipretreatment kemudian ditambahkan air destilat sebanyak 15 ml dan dilakukan netralisasi dengan menggunakan H₂SO₄ 97% sampai pH 7. Setelah itu dilakukan sterilisasi dengan pemanasan 80°C.

Hidrolisis

TKKS yang telah disterilisasi dan berbentuk bubur dimasukkan ke dalam bioreaktor dan dicampur dengan inokulum *Trichoderma reesei* 5%. Hidrolisa dilakukan pada temperature 30°C selama 48 jam dengan putaran *shaker* 150 rpm. Padatan dan cairan dipisahkan menggunakan vakum filter. Konsentrasi gula reduksi dianalisa menggunakan spektrofotometri dengan metode dinitrosalicylic acid.

Fermentasi

Setelah melalui proses hidrolisa, hidrolisat TKKS ditambahkan *Lactobacillus achidopillus* sebanyak 0,5; 1, 3 dan 5% (v/v). Pada saat awal ditambahkan CaCO₃ pada medium fermentasi untuk menjaga pH medium berkisar 4,7-5,9. Bioreaktor diinjeksikan nitrogen untuk mengusir oksigen yang ada. Proses fermentasi dilakukan selama 48 jam pada temperature 40°C dengan putaran shaker 150 rpm. Analisa asam laktat dilakukan setiap 12 jam dengan menggunakan HPLC.

Pemurnian Asam Laktat

Proses pemurnian dilakukan dengan menambahkan kalsium hidroksida (Ca(OH)₂) 1% b/b dari cairan hasil fermentasi, sehingga terbentuk Ca-laktat. Kemudian dilakukan penyaringan. Untuk mendapatkan asam laktat, kalsium laktat selanjutnya diasamkan dengan menambahkan larutan asam sulfat 0,01M pada temperatur 70°C sehingga menghasilkan asam laktat dan kalsium sulfat (gypsum). Gypsum dan asam laktat disaring sehingga asam laktat terpisah dari gypsum.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan adalah TKKS

yang berasal dari PTPN VIII, Serang-Banten, jamur *Trichoderma reesei* dan *Lactobacillus achidopillus* yang berasal dari laboratorium mikrobiologi ITB, media pertumbuhan mikroba (Merck), NaOH, H₂SO₄ (Merck), CaCO₃ dan Ca(OH)₂.

Alat

Alat yang digunakan adalah erlenmeyer 250 ml, *crusher*, alat-alat gelas (gelas ukur, beaker dan lain-lain), serta alat analisa berupa HPLC dengan kolom XDB C18 dan spektrofotometer.

Metode Pengumpulan dan Analisa Data

Karakteristik bahan baku (TKKS) yang meliputi analisa selulosa dan lignin menggunakan metode chesson : 1 gr (a) sampel kering ditambahkan 150 mL H₂O, direfluks pada suhu 100°C selama 1 jam. Hasilnya disaring, residu dicuci dengan air panas (300 mL). Residu kemudian dikeringkan dengan oven sampai konstan kemudian ditimbang (b). Residu ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 1 N kemudian direfluks selama 1 jam suhu 100 °C. Hasilnya disaring sampai netral (300 mL) dan dikeringkan (c). Residu kering ditambahkan 10 mL H₂SO₄ 72% dan direndam pada suhu kamar selama 4 jam. Ditambahkan 150 mL H₂SO₄ 1 N dan direfluks pada water bath selama 1 jam pada pendingin balik. Residu disaring dan dicuci dengan H₂O sampai netral (400 mL) kemudian dipanaskan dengan oven dengan suhu 105 °C dan hasilnya ditimbang (d). Perhitungan untuk mencari kadar selulosa adalah:

$$\text{Kadar selulosa} = \frac{c - d}{a} \times 100\%$$

Perhitungan untuk mencari kadar lignin adalah:

Konsentrasi gula reduksi dianalisa dengan menggunakan spektrofotometri dengan metode dinitrosalicylic acid (Miller, 1959) dan analisa asam laktat hasil fermentasi menggunakan *High performance liquid chromatography* (HPLC). Data yang telah didapatkan diolah dalam

bentuk grafik.

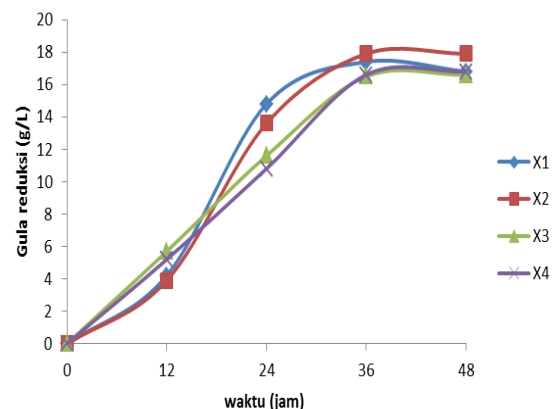
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik TKKS

Hasil pengujian kadar selulosa dan lignin TKKS didapatkan karakteristik TKKS yang digunakan mengandung 41,5% selulosa dan 30% lignin. Karakteristik kimia TKKS yang paling penting untuk pembuatan asam laktat adalah selulosa. Semakin tinggi kandungan selulosa pada bahan, akan semakin baik untuk bahan baku pembuatan asam laktat.

Proses hidrolisis

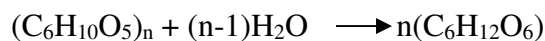
Proses hidrolisis dilakukan pada TKKS yang sebelumnya telah dipretreatment menggunakan NaOH, dinetralisasi menggunakan H₂SO₄ dan disterilisasi. Proses hidrolisis TKKS menggunakan *Trichoderma reesei* 5% dan dilakukan dalam 4 erlenmeyer yang berbeda (X1, X2, X3 dan X4). Cairan dari proses hidrolisis dilakukan penyaringan dan dianalisa konsentrasi gula reduksi. Konsentrasi gula reduksi yang dihasilkan selama proses hidrolisa terlihat pada Gambar 1.



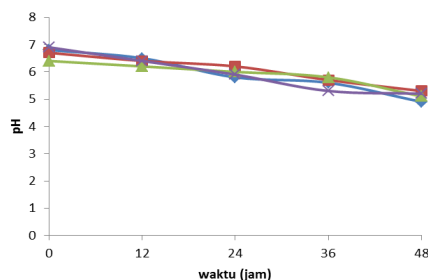
Gambar 1 Konsentrasi gula reduksi

Selama proses hidrolisis berlangsung konsentrasi gula reduksi meningkat secara signifikan terutama pada waktu kultivasi 24 jam. Pada saat ini fungi dapat memanfaatkan substrat berupa selulosa secara maksimal (pertumbuhan eksponensial) pada 24 jam pertama. Konsentrasi glukosa yang didapatkan

berkisar antara 16,6-17,9 (g/L). Selama proses hidrolisis selulosa diubah menjadi menjadi glukosa yang dikatalisis oleh enzim selulase yang dihasilkan oleh jamur *Trichoderma reesei*. Enzim selulase mengandung *endoglucanase*, *exoglukanase*, dan *3-glukosidase*. Mekanisme perombakan selulosa menjadi glukosa dilakukan oleh ketiga bagian enzim ini. *Endoglucanase*, *exoglukanase* dan *3-glukosidase* bekerja secara simultan untuk mengubah struktur kompleks dari selulosa menjadi gula sederhana. *Endoglucanase* berfungsi untuk memecah polisakarida selulosa menjadi rantai yang lebih pendek yaitu oligosakarida. *Endoglucanase* menyerang bagian tengah dari suatu polisakarida sehingga dari satu molekul polisakarida akan dihasilkan 2 molekul oligosakarida. Oligosakarida yang dihasilkan dikonversi kedalam bentuk molekul-molekul yang lebih kecil lagi (disakarida) yang dilakukan oleh *Exoglucanase* (*cellobiohidrolase*). Bagian lain adalah *3-glukosidase* yang berfungsi untuk mengkonversi atau memecah satuan disakarida menjadi dua molekul glukosa (Kardono, 2010). Aktivitas enzim selulase pada proses hidrolisis berlangsung dengan cepat dikarenakan adanya air yang berfungsi untuk memudahkan substrat masuk kedalam membrane sel. Reaksi sederhana penguraian selulosa secara enzimatik.



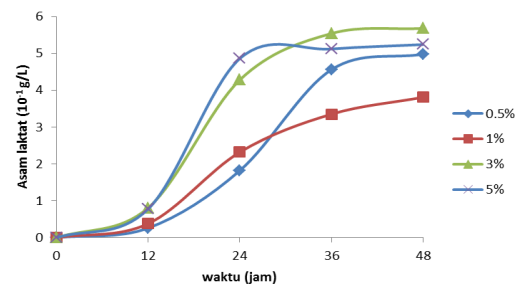
Produksi glukosa pada proses hidrolisis juga sangat dipengaruhi oleh pH sistem. Proses hidrolisis berlangsung pada pH 5-7 dan berlangsung secara optimum pada pH 6. Pada penelitian ini tidak dilakukan pengontrolan pH. pH hanya diatur pada awal proses hidrolisis. Selama hidrolisis berlangsung terjadi penurunan pH sistem. pH sistem selama berlangsung proses hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. pH selama proses hidrolisis

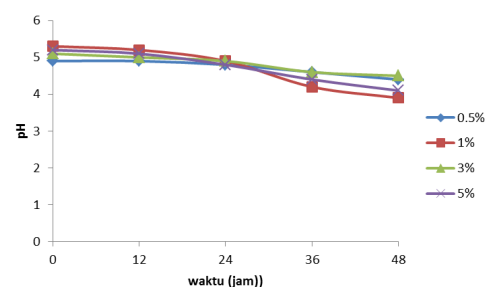
Proses Fermentasi

Cairan produk hidrolisis dari 4 erlenmeyer yang berbeda dilakukan proses penyaringan. Cairan dari X1, X2, X3 dan X4 ditambahkan *Lactobacillus acidophilus* masing-masing sebesar 0,5; 1; 3 dan 5% (v/v). Konsentrasi asam laktat pada proses fermentasi selama 48 jam terlihat pada Gambar 3 dibawah ini.



Gambar 3 Konsentrasi asam laktat selama proses fermentasi

Selama proses fermentasi berlangsung terlihat adanya kenaikan konsentrasi asam laktat. Kenaikan konsentrasi asam laktat terjadi pada 12 jam pertama fermentasi, dan aktivitas *Lactobacillus acidophilus* menurun pada fermentasi berikutnya. Hasil penelitian ini mirip dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Idris dan Suzana, (2006) serta Mussatto,dkk, (2008) dimana produktivitas bakteri maksimum dalam menghasilkan asam laktat pada 12 jam pertama proses fermentasi. Konsentrasi asam laktat tertinggi didapatkan sebesar 0,568 g/L pada penambahan *Lactobacillus acidophilus* 3% dan lama fermentasi 48 jam. Penurunan aktivitas mikroorganisme pada penelitian ini disebabkan karena tidak dikontrolnya pH sistem. Selama proses fermentasi berlangsung terjadi penurunan nilai pH, yang terlihat pada Gambar 4.



Gambar 4 pH sistem selama proses fermentasi

Penurunan pH disebabkan oleh terkonversi glukosa menjadi asam laktat dan asam-asam lainnya dan buffer yang ada didalam sistem tidak mampu untuk mempertahankan pH sistem. pH merupakan suatu faktor yang sangat menentukan pertumbuhan dan aktivitas mikroorganisme. pH akhir proses fermentasi antara 3,9-4,5. pH optimum untuk pertumbuhan dan pembentukan asam laktat oleh beberapa mikroorganisme adalah pada pH 5,0 dan 7,0 (Hofvendahl dan Hahn-Hagerdal,2000). Untuk *Lactobacillus acidophilus*, pH optimum pertumbuhan dan produksi asam laktat pada pH 6,5 pada temperature 37°C (Tomás , 2003).

SIMPULAN DAN SARAN

Hidrolisis TKKS secara biologis dengan penambahan 5% *Tricoderma reesei* menghasilkan glukosa sebesar 16,6-17,9 g/L. Fermentasi glukosa menjadi asam laktat dengan variasi penambahan bakteri *Lactobacillus acidophilus*, menghasilkan konsentrasi asam laktat tertinggi sebesar 0.568 g/L dengan waktu fermentasi 48 jam dan penambahan *Lactobacillus acidophilus* 3%. pH merupakan faktor penting dalam proses hidrolisis dan fermentasi. Pada proses fermentasi tanpa pengontrolan pH, terjadi penurunan pH selama reaksi berlangsung, sehingga mengganggu aktifitas *Lactobacillus acidophilus*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih penulis ucapkan kepada Direktorat Pendidikan Tinggi yang telah mendanai penelitian ini melalui program penelitian Hibah Bersaing, DIPA.023.04.1.573453/2015, dengan nomor kontrak 205/UN43.9/PL/K/2015

DAFTAR PUSTAKA

Carrasco, F., et al. 2010. *Processing of poly (lactic acid): characterization of chemical structure, thermal stability and mechanical properties*. Polymer Degradation and Stability, **95**(2): p. 116-125.

Idris, A. and W. Suzana. 2006. *Effect of sodium alginate concentration, bead diameter, initial pH and temperature on lactic acid production from pineapple*

waste using immobilized Lactobacillus delbrueckii. Process Biochemistry, **41**(5): p. 1117-1123.

- John, R.P., K.M. Nampoothiri, and A. Pandey.2007. *Fermentative production of lactic acid from biomass: an overview on process developments and future perspectives*. Applied Microbiology and Biotechnology, **74**(3): p. 524-534.
- K. Hofvendahl, B. Hahn-Hagerdal. 2008. *Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources*, Enzyme Microb. Technol. 26: 87-107.
- L.Broto, S.Kardono. 2010. *Teknologi Pembuatan Etanol Berbasis Lignoselulosa Tumbuhan Tropis untuk Produksi Biogasoline*. Laporan akhir Program Insentif Penelitian & Perekayasa LIPI.
- Lasprilla, Astrid JR, Martinez, Guillermo AR, Lunelli, Betânia H, & Jardini, André L. 2012. *Poly-lactic acid synthesis for application in biomedical devices—A review*. Biotechnology advances, **30**(1), 321-328
- Lopes, M Savioli, & Jardini, AL. 2012. *Poly (lactic acid) production for tissue engineering applications*. *Procedia Engineering*, **42**, 1530-1542.
- G.L. Miller. 1959. *Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar*, Anal. Chem. **31**; 426-428.
- Mukund,G.A, Anjani J.V, Gokhale. (2007). *Lactic acid production from waste sugarcane baggase derived cellulose*. Green Chemistry, **9**, 58-62.
- Pudjiastuti, W. and G. Supeni. 2005. *Plastik Layak Santap (Edible Plastic) dari Tapioka Termodifikasi*. Balai Besar Kimia dan Kemasan, Jakarta.
- Rahmayetty, dkk(2013), *Pembuatan Asam Laktat Berbahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan Metode Sakarifikasi Fermentasi Simultan*.Prosiding Seminar nasional Integrasi Proses 2014.
- Sudiyani, Y., et al. 2013. *Utilization of Biomass Waste Empty Fruit Bunch Fiber of Palm Oil for Bioethanol Production Using Pilot-Scale Unit*. Energy Procedia, **32**: p. 31-38.

Tomás, M.S.J., et al. 2003. *Growth and lactic acid production by vaginal Lactobacillus acidophilus CRL 1259, and inhibition of uropathogenic Escherichia coli*. Journal of Medical Microbiology, **52**(12): p. 1117-1124.

Matsumoto, K.i. and S. Taguchi. 2010. *Enzymatic and whole-cell synthesis of lactate- containing polyesters: toward*

the complete biological production of polylactate. Applied microbiology and biotechnology, **85**(4): p. 921-932.

Mussatto, S.I., et al. 2008. *Effects of medium supplementation and pH control on lactic acid production from brewer's spent grain*. Biochemical Engineering Journal, **40**(3): p. 437-444.