

PEMANFAATAN LIMBAH BATANG POHON PISANG UNTUK PRODUKSI ASAM LAKTAT SECARA FERMENTASI DENGAN VARIASI KONSENTRASI INOKULUM *Lactobacillus acidophilus*

Inherni Marti Abna, Eka Fauzi, Harizal
Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul,
Jakarta Jalan Arjuna Utara No 9, Kebon Jeruk Jakarta-11510
Email : inherni.martiabna@esaunggul.ac.id

Received: Februari 2023; Revised: Maret 2023; Accepted: Maret 2023; Available online: April 2023

ABSTRACT

Banana plants are plants that are commonly found in Indonesia. One part of the banana plant is the stem. The banana stem is the part that has not been used optimally, the fruit is taken and then thrown away or collected somewhere as waste and left to rot. Banana stem contain nutrients that can be used as a food source for microbes so that they develop properly. The complete nutritional content of banana stem can be used as a microbial fermentation medium to produce lactic acid. Lactic acid is a hydroxycarboxylic acid which has many uses in industries such as food and pharmaceuticals. The aim of this study was to utilize banana stem waste as an alternative substrate in producing lactic acid with the helped of *Lactobacillus acidophilus* bacteria by fermentation. This study used an experimental method with a completely randomized design (CRD) with three treatments and three replications. The best fermentation time for *Lactobacillus acidophilus* in producing lactic acid is determined based on the growth curve for 24 hours with optical density (OD) measurements at a wavelength of 600 nm. Fermentation was carried out at 37°C with an agitation speed of 150 rpm. The results showed that 20 hours was the best fermentation time. Lactic acid production by *Lactobacillus acidophilus* was carried out using inoculum concentrations of 10%, 25% and 50%. Determination of lactic acid content using the UV-Vis spectrophotometry method and the determination of sugar content using the phenol sulfate method. The results showed that 10% was the best inoculum concentration which produced the highest lactic acid of 2.08 g/L and medium sugar of 1.878 g/L in the fermentation medium.

Keywords: Lactic acid bacteria, banana stems, fermentation, *Lactobacillus acidophilus*, inoculum concentration

ABSTRAK

Tanaman pisang merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia. Salah satu bagian dari tanaman pisang adalah batang pohonnya. Batang pohon pisang merupakan bagian yang belum dimanfaatkan secara optimal, yang diambil buahnya lalu dibuang atau dikumpulkan pada suatu tempat sebagai limbah dan dibiarkan hingga busuk. Batang pohon pisang memiliki kandungan gizi yang dapat digunakan sebagai sumber makanan bagi mikroba sehingga berkembang dengan baik. Kandungan gizi yang lengkap dari batang pohon pisang ini dapat dimanfaatkan sebagai media fermentasi mikroba untuk menghasilkan asam laktat. Asam laktat merupakan hidrosikarboksilat yang memiliki banyak manfaat dalam bidang industri seperti pangan dan farmasi. Tujuan pada penelitian ini adalah memanfaatkan limbah batang pohon pisang sebagai alternatif substrat dalam memproduksi asam laktat dengan bantuan bakteri *Lactobacillus acidophilus* secara fermentasi. Penelitian ini menggunakan metoda eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga perlakuan dan tiga ulangan. Waktu fermentasi terbaik bagi *Lactobacillus acidophilus* dalam memproduksi asam laktat ditentukan berdasarkan kurva pertumbuhan selama 24 jam dengan pengukuran *optical density* (OD) pada panjang gelombang 600 nm. Fermentasi dilakukan pada suhu 37°C dengan kecepatan agitasi 150 rpm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 20 jam merupakan waktu fermentasi terbaik. Produksi asam laktat oleh *Lactobacillus acidophilus* dilakukan dengan menggunakan konsentrasi inokulum 10%, 25%, dan 50%. Penentuan kadar asam laktat menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dan penentuan kadar gula menggunakan metode sulfat fenol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa 10 % merupakan konsentrasi inokulum terbaik yang menghasilkan asam laktat tertinggi sebesar 2,08 g/L dan gula media sebesar 1,878 g/L dalam medium fermentasi.

Kata kunci: Bakteri asam laktat, batang pisang, fermentasi, *Lactobacillus acidophilus*, konsentrasi inokulum

PENDAHULUAN

Tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) merupakan tanaman yang cukup banyak ditemukan di Indonesia. Produksi pisang di Indonesia mempunyai daerah persebaran yang luas, hampir diseluruh wilayah merupakan tempat produksi buah pisang. Pada umumnya banyak ditanam di pekarangan rumah ataupun di ladang, dan sebagian besar telah membudidayakannya menjadi perkebunan pisang (1). Salah satu bagian dari tanaman pisang adalah batang pohonnya. Batang pohon pisang merupakan bagian yang belum dimanfaatkan secara optimal, yang diambil buahnya akan terbuang atau dikumpulkan pada suatu tempat sebagai limbah dan dibiarkan hingga busuk. Menumpuknya batang pohon pisang yang sudah diambil buahnya menjadi suatu faktor bagi petani dalam pengolahan tanah yang tidak subur seperti semula (2).

Batang pohon pisang memiliki kandungan gizi yang dapat digunakan sebagai sumber makanan bagi mikroba sehingga berkembang dengan baik (3). Kandungan nutrisi batang pohon pisang bervariasi, seperti kandungan bahan kering 3,60-9,80%, protein kasar 2,40-8,30%, lemak kasar 3,20-8,10%, bahan ekstrak tanpa nitrogen (karbohidrat, gula, dan pati) 31,60-53,00%, abu 18,4-24,70%, serat kasar 13,40-31,70%, selulosa 19,70-35,20%, hemiselulosa 4,90-18,70% dan lignin 1,3-9,20% (4). Kandungan gizi yang lengkap dari batang pohon pisang ini salah satunya dapat dimanfaatkan sebagai media fermentasi mikroba untuk menghasilkan asam laktat.

Asam laktat (asam hidroksikarboksilat) merupakan asam yang paling melimpah di alam (5). Asam laktat telah dinyatakan sebagai pengawet yang aman GRAS (*Generally Recognize As Safe*) oleh FDA (*Food and Drug Administration*) sehingga banyak digunakan di berbagai industri diantaranya industri makanan, minuman, kimia, kosmetik, dan farmasi (6). Asam laktat juga digunakan sebagai bahan baku utama dari pembuatan polimer biodegradable yaitu polilactic acid (PLA). PLA merupakan salah satu alternatif polimer yang ramah lingkungan serta dapat digunakan sebagai bahan baku untuk bahan bakar fosil. (13).

Produksi asam laktat dapat dilakukan dengan cara fermentasi mikroba. Produksi asam laktat dengan cara fermentasi mikroba mempunyai kelebihan, salah satunya kemurnian asam laktat yang dihasilkan cukup relatif tinggi dengan asam laktat L(+) optis yang dihasilkan memiliki titik leleh dan kristalisasi yang tinggi. Produksi asam laktat dengan fermentasi mikroba dapat dibuat dari berbagai sumber yang mengandung karbohidrat seperti jagung, beras, gandum, kentang dan singkong. Akan tetapi penggunaan bahan-bahan tersebut menimbulkan persaingan industri asam laktat dengan sektor makanan, karena bahan tersebut merupakan bahan pokok yang digunakan untuk makanan manusia dan hewan sehingga perlu dicari alternatif bahan baku substrat yang lain seperti limbah organik yang terbuang (27). Mikroba yang sering digunakan pada produksi asam laktat cara fermentasi adalah bakteri *Lactobacillus acidophilus* (5). *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri yang paling diminati oleh industri fermentasi karena bakteri tersebut mampu mengubah gula menjadi asam laktat (6,7).

Berdasarkan potensi yang dimiliki oleh limbah batang pohon pisang maka penulis terinspirasi untuk meneliti batang pohon pisang sebagai bahan baku untuk produksi asam laktat melalui proses fermentasi. Dengan demikian batang pohon pisang yang tadinya terbuang begitu saja dapat dimanfaatkan untuk dijadikan produk yang bernilai ekonomis. Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mempelajari fermentasi limbah batang pohon pisang dengan bervariasi konsentrasi inokulum bakteri penghasil asam laktat yaitu *Lactobacillus acidophilus*.

METODE PENELITIAN

Alat

Neraca analitik (Sartorius®), mikropipet (Eppendorf®), autoklaf (Tomy SX-500®), *magnetic stirrer* (79-1 Magnetic Stirrer®), laminar air flow (Lab Tach®), spektrofotometri UV-Vis (JASCO V-730®), *waterbath shaker incubator* model BT-150D (Yihder Co®), sentrifugasi (Eppendorf®), beker gelas, tabung sentrifugasi (Eppendorf®), erlenmeyer 250 mL, aluminium foil, kertas saring whattman no.42, saringan, penutup gabus, kaca arloji, spatula, *hotplate* model RSH-1DR (AS-ONE, Japan®), inkubator (Santn®), vortex mixer (Dragonlab®), tabung reaksi, rak tabung reaksi, dan jarum ose.

Bahan

MRS Agar (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*) (Oxoid®), MRS Broth (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*) (Oxoid®), fenol (Supelco®), H₂SO₄ 98% PA (Supelco®), FeCl₃.6H₂O (Merck®), glukosa (Merck®), asam laktat PA (Merck®), akuades, pepton (Merck®), ekstrak daging (Merck®), ekstrak ragi (Merck®), glukosa (Merck®), K₂HPO₄ (Merck®), C₆H₁₄O₇N₂ (Merck®), CH₃COONa (Merck®), MgSO₄ (Merck®), dan Tween 80 (Sigma-Aldrich®).

Penyiapan Sampel

Limbah batang pohon pisang kepok dicuci bersih kemudian dirajang dan ditimbang sebanyak 10 kg, kemudian dihaluskan dan disaring menggunakan saringan dan filtratnya disimpan dalam erlenmeyer kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Pembuatan Media Pertumbuhan

Media dibuat dengan melarutkan MRSB sebanyak 52g dan MRSA sebanyak 62g masing-masing dilarutkan dengan akuades hingga 1 liter dalam erlenmeyer kemudian dipanaskan dengan suhu 70°C menggunakan *hotplate magnetic stirrer* hingga larut dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (9).

Pembuatan Media Dasar Fermentasi

Masing-masing media dasar fermentasi (tabel 1) ditimbang dengan seksama, dilarutkan dengan akuadest hingga 1 liter. Kemudian dipanaskan dan menggunakan *hotplate magnetic stirrer* dengan suhu 70°C hingga larut dan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (10). Susunan media dasar fermentasi yang digunakan dibuat berdasarkan formula (28) sebagai berikut:

Tabel 1. Komposisi Media Dasar Fermentasi

Nama Bahan	Konsentrasi (g/L)
Pepton	10
Ekstrak daging	8
Ekstrak ragi	4
Glukosa	20
K ₂ HPO ₄	2
C ₆ H ₁₄ O ₇ N ₂	2
CH ₃ COONa	5
MgSO ₄	0,2
Tween 80	1

Peremajaan Kultur *Lactobacillus acidophilus*

Biakan induk *Lactobacillus acidophilus* FNCC 0051 diperoleh dari Laboratorium *Food and Nutrition Culture Collection* (FNCC) Universitas Gadjah Mada. Diambil sebanyak satu ose kultur murni bakteri dan digoreskan ke dalam medium MRSA miring dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (11).

Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat

Kultur *Lactobacillus acidophilus* dari media MRSA miring diambil sebanyak 1 ose dan dinokulasikan ke dalam media MRSB sebanyak 200 mL. Kemudian diinkubasi menggunakan *waterbath shaker incubator* selama 24 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) setiap 2 jam sekali berdasarkan nilai absorbansinya. Waktu sampling sebagai sumbu X dan OD sebagai sumbu Y. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 600nm (12).

Pembuatan Inokulum Bakteri

Sebanyak satu ose biakan *Lactobacillus acidophilus* dari medium agar miring diinokulasikan ke dalam media MRSB sebanyak 200mL lalu ditutup dengan rapat. Selanjutnya diinkubasi menggunakan *waterbath shaker incubator* selama 20 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C. Ini menjadi biakan induk I. Untuk biakan induk II disiapkan labu erlenmeyer 250 mL berisi 100 mL media dasar fermentasi dan 100 mL limbah batang pisang. Ditambahkan sebanyak 10% inokulum dari biakan induk I kemudian diinkubasi menggunakan *waterbath shaker incubator* selama 20 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C. Biakan induk II selanjutnya dapat dijadikan starter untuk media fermentasi (13,14).

Proses Fermentasi

Sebelum proses fermentasi dimulai, dilakukan analisis terlebih dahulu terhadap limbah batang pohon pisang yang akan digunakan sebagai media atau substrat, yaitu analisis kadar glukosa dan pH. Proses fermentasi dimulai dengan mempersiapkan 3 buah reaktor yang berkapasitas 250 mL dan volume kerja 200 mL. Selanjutnya ke dalam masing-masing reaktor dimasukkan limbah batang pohon pisang sebanyak 200 mL dan dinokulasikan dengan *Lactobacillus acidophilus* dengan konsentrasi inokulum pada masing-masing reaktor yaitu 10%, 25% dan 50%. Kemudian reaktor tersebut ditutup rapat hingga tidak ada udara yang masuk pada reaktor tersebut. Proses fermentasi dilakukan dengan kondisi mesophilic anaerob ($T=37^{\circ}\text{C}$). Reaktor selanjutnya diinkubasi menggunakan *waterbath shaker incubator* dengan kecepatan agitasi 150 rpm selama 36 jam. Lama fermentasi disesuaikan dengan data pada kurva pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* pada medium MRSB. Setiap 4 jam dilakukan penyamplingan dengan menggunakan *mikropipet* sebanyak 5 ml dimasukkan ke dalam tabung *microtube* steril dan disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit lalu disimpan didalam *freezer* dengan suhu -20°C untuk selanjutnya dilakukan analisis *Optical Density*, pH media fermentasi, kadar gula sisa, dan kadar asam laktat (8).



Gambar 1. Proses fermentasi limbah batang pohon pisang

Analisis Kadar Gula Media Fermentasi

Larutan hasil fermentasi dipipet 1 mL dan ditambahkan 1 mL fenol 5%, dikocok kemudian ditambahkan 5 mL larutan H_2SO_4 98% secara cepat. Didiamkan selama 10 menit kemudian larutan di vortex selama 30 detik dan didiamkan dalam penangas air selama 15 menit dengan suhu 40°C . Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 490nm (14).

Analisis pH Sampel

Pengukuran pH dilakukan menggunakan pH indikator universal dengan cara mengukur pada semua sampel hasil penyamplingan lalu dicatat nilai pH-nya (11).

Analisis Kadar Asam Laktat

Larutan uji sebanyak 100 μL ditambahkan dengan larutan FeCl_3 sebanyak 2 mL kemudian dikocok selama 1 menit. Kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang

370nm. Reaksi dan pengukurannya dilakukan pada suhu ruang. Reaksi FeCl_3 dengan asam laktat menghasilkan warna hijau kekuningan (15).

Pemisahan Asam Laktat

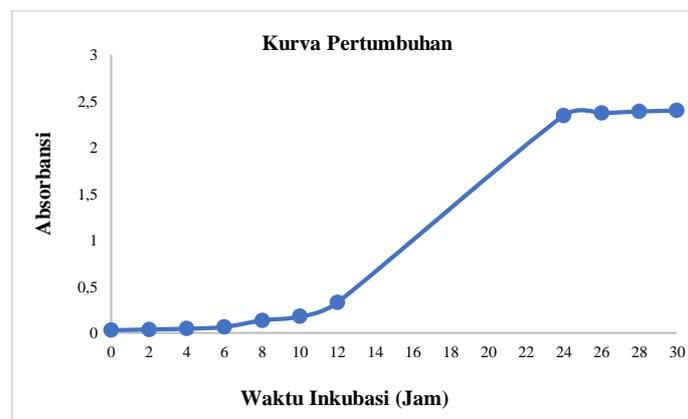
Cairan hasil fermentasi ditambahkan dengan $(\text{Ca}(\text{OH})_2)$ 1% (b/b) dari cairan hasil fermentasi, sehingga terbentuk kalsium laktat. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Hasil dari penyaringan ditambahkan H_2SO_4 0,01 M pada temperatur suhu 70°C menggunakan *waterbath* sehingga akan menghasilkan kalsium sulfat dan asam laktat. Kemudian disaring sehingga asam laktat dan kalsium sulfat terpisah (16).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Limbah batang pisang dipersiapkan dengan cara dihaluskan menggunakan *blender* kemudian dilakukan penyaringan menggunakan saringan untuk memisahkan filtrat dengan ampasnya. Selanjutnya dilakukan pengujian pH pada limbah batang pisang. Hasil pengujian derajat keasaman pada limbah batang pisang yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH 6. Menurut (17) pH 5-6 adalah kondisi yang baik bagi mikroorganisme, terutama bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus* untuk berkembang. Nilai pH limbah batang pisang yang digunakan dalam penelitian ini sudah sesuai dengan kondisi optimum untuk pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Inokulum merupakan biakan bakteri induk yang diinokulasikan ke dalam suatu media cair yang siap digunakan untuk media fermentasi (18). Pada penelitian ini terdapat dua jenis inokulum, yaitu inokulum induk dan inokulum kerja. Inokulum induk merupakan kultur murni bakteri *Lactobacillus acidophilus* dari media padat yaitu MRSA miring diinokulasikan ke dalam media cair yaitu MRSB, hal ini dilakukan agar bakteri *Lactobacillus acidophilus* terbiasa dalam lingkungan media yang cair. Sedangkan inokulum kerja dibuat dari inokulum induk yang diinokulasikan ke dalam campuran media dasar fermentasi dan limbah batang pisang. Penambahan media dasar fermentasi bertujuan untuk memberikan sumber nitrogen pada pertumbuhan bakteri asam laktat dan penambahan limbah batang pisang dilakukan agar bakteri *Lactobacillus acidophilus* terbiasa dengan media limbah batang pisang sehingga ketika diinokulasikan ke dalam media fermentasi selanjutnya tidak mengalami fase adaptasi yang panjang. Hal ini didukung dengan pernyataan (19), nutrisi lengkap yang terkandung dalam media produksi ini bertujuan agar sel dapat tumbuh dengan optimum sehingga dapat menghasilkan kadar asam laktat yang tinggi.

Lama waktu inkubasi untuk pembuatan inokulum induk dan inokulum kerja ditentukan berdasarkan hasil kurva pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dalam media MRSB. Kurva pertumbuhan dibuat dengan cara mengukur jumlah sel *Lactobacillus acidophilus* dalam media MRSB dengan pengukuran *optical density* (OD) pada panjang gelombang 600 nm.

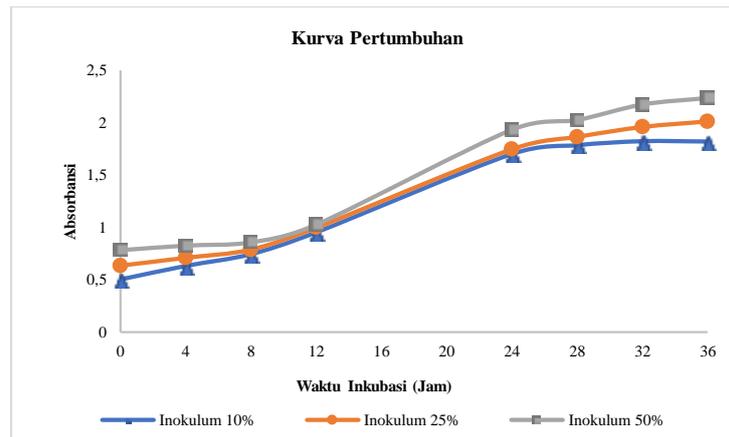


Gambar 1. Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dalam media MRSB

Berdasarkan Gambar 1. *Lactobacillus acidophilus* mengalami fase lag selama 6 jam. Fase eksponensial mulai jam ke-8 sampai jam ke-24 dan fase stasioner dimulai pada jam ke-26 sampai jam ke-30. Hasil kurva pertumbuhan pada media MRSB menunjukkan waktu inkubasi untuk pembuatan

inokulum adalah pada jam ke-20. Pada jam ke-20 *Lactobacillus acidophilus* berada pada puncak fase ekponensial yaitu dimana pada fase tersebut banyak sel-sel yang aktif yang ditandai dengan nilai absorbansi yang tinggi. Menurut (20) fase ekponensial ini merupakan fase yang tepat untuk pemindahan bakteri ke media fermentasi dengan volume yang lebih besar. Penggunaan kultur bakteri yang sedang berada dalam fase ekponensial dapat mengoptimalkan dan mempercepat proses fermentasi.

Proses fermentasi *Lactobacillus acidophilus* dalam media limbah batang pisang dilakukan secara anaerob dengan masing-masing konsentrasi inokulum yaitu 10%, 25%, dan 50% diinkubasi selama 36 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan agitasi 150 rpm dan dilakukan pengukuran absorbansi setiap 4 jam. Selama proses fermentasi berjalan dilakukan pengukuran jumlah sel *Lactobacillus acidophilus* untuk melihat profil pertumbuhannya dalam media limbah batang pisang.

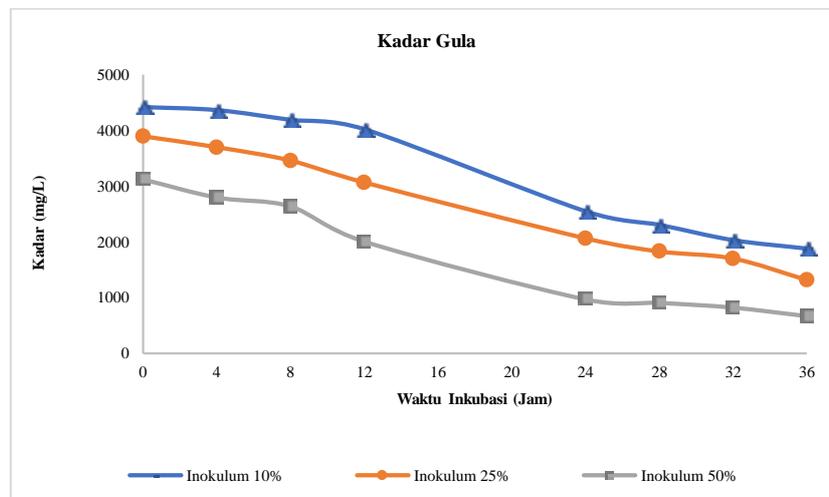


Gambar 2. Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dalam Media Limbah Batang Pisang

Berdasarkan Gambar 2 pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* pada limbah batang pisang mengalami fase lag yang singkat. Fase lag adalah fase dimana mikroba yang diinokulasi akan melakukan adaptasi dengan kondisi lingkungan sekitarnya yang baru. Lamanya fase ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti media dan lingkungan pertumbuhan serta jumlah inokulum awal. Jika media dan lingkungan pertumbuhan awal sama seperti media dan lingkungan sebelumnya, akan memungkinkan fase adaptasi berjalan lebih cepat (20). Jumlah inokulum juga berpengaruh terhadap lamanya fase adaptasi, dimana semakin tinggi jumlah awal sel maka fase adaptasi akan berlangsung lebih singkat (21). Pada fermentasi jam ke-12 hingga jam ke-24 terjadi peningkatan jumlah sel yang pesat, diduga pada fase ini bakteri *Lactobacillus acidophilus* sudah memasuki fase ekponensial. Fase ekponensial merupakan fase dimana sel bakteri membelah dengan cepat dan konstan dengan aktivitas metabolisme yang tinggi sehingga menghasilkan laju pertumbuhan yang paling tinggi dibandingkan dengan fase-fase lainnya. Selanjutnya pada jam ke-24 hingga ke-36 jumlah sel *Lactobacillus acidophilus* tidak bertambah lagi dan menurun seiring waktu fermentasi. Menurut (22), tidak bertambah dan menurunnya jumlah sel ini menunjukkan bahwa sel telah memasuki fase stasioner menuju kematian. Hal ini diduga karena nutrisi di dalam medium fermentasi sudah berangsur-angsur berkurang dan kondisi lingkungan yang kurang mendukung bagi sel bakteri untuk bertahan hidup akibat dari hasil-hasil metabolisme mikroba itu sendiri.

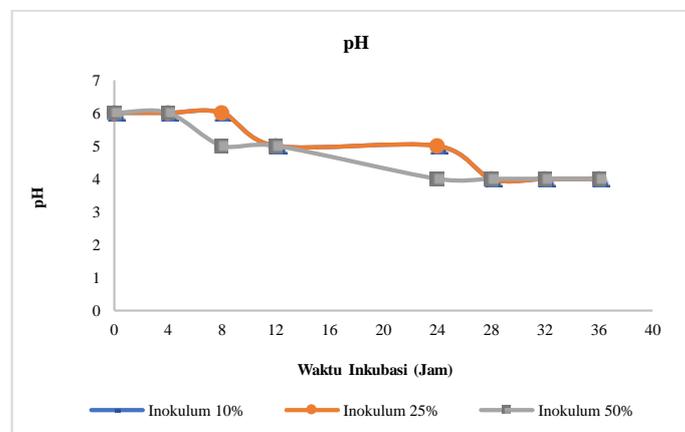
Berdasarkan hasil analisis total gula sebelum fermentasi menunjukkan bahwa total gula yang terdapat pada media limbah batang pohon pisang adalah 7,3 g/L. Setelah diinokulasikan dengan *Lactobacillus acidophilus* dengan konsentrasi 10%, 25%, dan 50% pada fase ekponensial yaitu jam ke-0 kadar gula masing-masing menjadi 4,41 g/L, 3,88 g/L, dan 3,11 g/L dan kadar gula terus menurun hingga fase stasioner yaitu jam ke-36 yaitu menjadi 1,87 g/L untuk konsentrasi inokulum 10%, untuk konsentrasi inokulum 25% dan 50% masing-masing sebesar 1,32 g/L dan 0,67 g/L. Penurunan total gula pada media fermentasi sudah sesuai dengan kurva pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dimana semakin lama fermentasi jumlah sel bakteri yang dihasilkan untuk memecah gula menjadi energi juga semakin banyak, sehingga gula yang terdapat pada medium fermentasi juga semakin sedikit. Hal ini sudah sejalan dengan penelitian (23), yang menyatakan bahwa semakin banyak sel bakteri asam laktat

yang terbentuk maka penggunaan glukosa untuk metabolisme sel juga semakin banyak, sehingga menyebabkan adanya penurunan total gula.



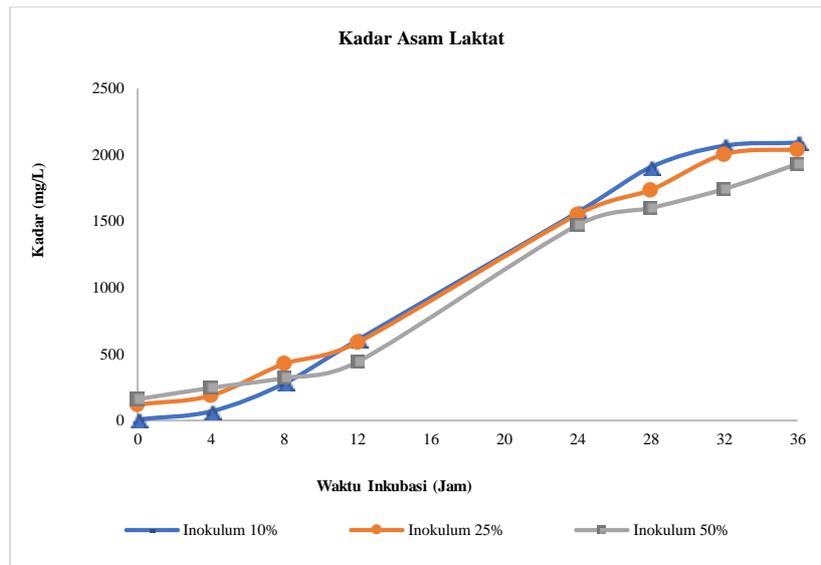
Gambar 3. Grafik Perubahan Total Gula Media Selama Fermentasi

Nilai pH awal limbah batang pisang yang digunakan sebagai substrat pada media fermentasi adalah 6. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH limbah batang pisang pada fermentasi dengan variasi konsentrasi inokulum 10%, 25%, dan 50% mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu fermentasi, dimana nilai pH akhir media fermentasi untuk konsentrasi inokulum 10%, 25%, dan 50% masing-masing adalah 4. Grafik penurunan pH dapat dilihat pada gambar 4. Penurunan nilai pH ini membuktikan bahwa terjadinya proses fermentasi. (24) menyatakan bahwa penambahan starter pada proses fermentasi dapat menurunkan nilai pH. Konsentrasasi bakteri starter akan berbanding terbalik dengan nilai pH asam laktat yang dihasilkan dari proses fermentasi.



Gambar 4. Grafik Perubahan pH pada Media Fermentasi

Hasil analisis kadar asam laktat yang diperoleh dari fermentasi limbah batang pisang dengan variasi konsentrasi inokulum bakteri *Lactobacillus acidophilus* meningkat seiring lamanya waktu fermentasi, seperti diperlihatkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kadar Asam Laktat Selama Fermentasi

Pada masing-masing perlakuan konsentrasi inokulum mulai dihasilkan asam laktat pada fase eksponensial yaitu jam ke-0 sampai jam ke-24 dimana pada fase tersebut terjadi peningkatan kadar asam laktat yang tinggi, sedangkan pada fase stasioner yaitu jam ke-28 sampai jam ke-36 masih terjadi produksi asam laktat tetapi lebih rendah dari fase sebelumnya. Hal ini didukung dengan penelitian yang sudah dilakukan oleh (25) bahwa pada fase stasioner ketersediaan substrat, nutrisi, dan kondisi media fermentasi kurang mendukung untuk pertumbuhan mikroba, sehingga kadar asam laktat pada fase stasioner lebih rendah dibandingkan pada fase eksponensial. Berdasarkan hasil uji statistik menunjukkan variasi konsentrasi inokulum tidak memberikan pengaruh yang signifikan ($\text{sig} > 0,05$) terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan, sehingga rentang konsentrasi inokulum 10% hingga 50% inokulum dapat digunakan sebagai starter media fermentasi asam laktat dengan substrat limbah batang pohon pisang. Namun konsentrasi inokulum terbaik yang dapat digunakan yaitu 10% dengan menghasilkan konsentrasi asam laktat tertinggi yaitu sebesar 2,08 g/L, diikuti oleh variasi konsentrasi inokulum 25% yaitu sebesar 2,04 g/L, dan kadar asam laktat terendah diperoleh pada variasi konsentrasi inokulum 50% yaitu sebesar 1,92 g/L. Selanjutnya pada masing-masing perlakuan, kadar asam laktat tertinggi diperoleh pada awal fase stasioner yaitu jam ke-36, hal ini sama seperti penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (26,8) bahwa kenaikan konsentrasi asam laktat terjadi pada 12 jam pertama fermentasi dan kadar asam laktat tertinggi diperoleh pada awal fase stasioner, yaitu pada jam ke-36 dimana waktu tersebut merupakan puncak pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*.

Proses pemisahan produk asam laktat dari cairan fermentasi yaitu dengan menambahkan agen penetral kalsium hidroksida kemudian menghasilkan kalsium laktat dengan pH 8. Kemudian dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring untuk memisahkan kalsium laktat dengan air. Kalsium laktat kemudian dilakukan pengasaman dengan menambahkan asam sulfat 0,01 M sebanyak 30mL pada temperatur suhu 70°C menggunakan penangas air sehingga menghasilkan kalsium sulfat dan asam laktat dengan pH 4. Kemudian larutan tersebut dilakukan penyaringan sehingga asam laktat dan kalsium sulfat terpisah. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh (13), bahwa larutan fermentasi ketika ditambahkan kalsium hidroksida akan menghasilkan endapan, dimana endapan tersebut merupakan hasil reaksi dari asam laktat dengan kalsium hidroksida yaitu kalsium laktat. Selanjutnya penambahan asam sulfat pada kalsium laktat menghasilkan endapan baru yaitu kalsium sulfat.



Gambar 6. Pemisahan Asam Laktat

KESIMPULAN

Limbah batang pohon pisang dapat digunakan sebagai substrat untuk memproduksi asam laktat oleh *Lactobacillus acidophilus*. Uji statistik menunjukkan variasi konsentrasi inokulum tidak berbeda secara nyata ($\text{sig} > 0,05$) terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan. Kadar asam laktat yang diperoleh pada perlakuan konsentrasi inokulum 10% yaitu sebesar 2,08 g/L, konsentrasi inokulum 25% sebesar 2,04 g/L, dan konsentrasi inokulum 50% sebesar 1,92 g/L. Konsentrasi inokulum paling optimum yaitu sebesar 10% dengan kadar asam laktat tertinggi sebesar 2,08 g/L.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ayu Sonia J, H. J. (2018). Analisis Keanekaragaman dan Pengelompokan Varietas Pisang (*Musa paradisiaca* L.) Berdasarkan Metode Fenetik. *Departemen Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi Universitas Airlangga, Surabaya*.
2. Pandia, E. S., Fitri, R., Sundari, S., & Saipul. (2017). Pemanfaatan limbah batang pisang sebagai media tanam di desa peunaron lama kecamatan peunaron kabupaten aceh timur. *Jurnal Jeumpa*, 4(1).
3. Kartika, G. R. A., & Suryaningtyas, E. W. (2021). Kandidat probiotik ramah lingkungan dari batang pisang (*Musa paradisiaca*) untuk peningkatan produksi ikan nila (*Oreochromis niloticus*) . *Journal of Marine and Aquatic Sciences*.
4. Rochana, A., Dhalika, T., Budiman, A., & Kamil, K. A. (2017). Nutritional value of a banana stem (*Musa paradisiaca* val) of anaerobic fermentation product supplemented with nitrogen, sulphur and phosphorus sources. *Pakistan Journal of Nutrition*, 16(10), 738–742.
5. Nurdiyansyah, F., Hafidz, U., & Hasbullah, A. (2018). Optimization of Lactic Acid Fermentation by *Lactobacillus casei* on Fermentation Medium with Banana Peel Flour Substitution. *Journal of Biology*.
6. Abedi, E., & Hashemi, S. M. B. (2020). Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. In *Heliyon* (Vol. 6, Issue 10).
7. Rahmadi, A. (2018). *Bakteri Asam Laktat dan Mandai Cempedak Hybrid Sun-Electrical Dryer with Open Source Micro-controller Platform for Local Herbal Products in East Kalimantan View project 2016 FMIPA-UNMUL View project*.
8. Triovanta, U., Ratna, & Darwin. (2020). Produksi asam laktat dari fermentasi limbah cair olahan kelapa dengan variasi konsentrasi inokulum *Lactobacillus acidophilus*. *Serambi Engineering*, V(4).
9. Setyowulan, I. A., Nurlaili, P., Nurdiyansyah, F., & Hasbullah, U. A. (2018). Pengaruh konsentrasi substrat tepung kulit pisang kepok dan kecepatan pengadukan terhadap pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*
10. Abna, I. M. (2018). Pemanfaatan Limbah Air Kelapa Sebagai Substrat oleh *Bacillus Subtilis* ATCC 6051 untuk Produksi Antibiotika. In *Jakarta Jalan Arjuna Utara* (Vol. 15, Issue 9).
11. Endang, A., Hasan, Z., Made Artika, I., Abidin, S., & Hasan, A. E. Z. (2014). Produksi Asam Laktat dan Pola Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dengan Pemberian Dosis Rendah Propolis *Trigona* spp asal Pandeglang Indonesia. *Current Biochemistry*.

12. Sharah, A., Karnila, R., & Desmelati. (2015). Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Yang di Isolasi dari Ikan Peda Kembang(Rastrelliger sp.). *Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau*.
13. Rahmayetty, Kanani, N., Fauziah, I., Nurul, U., & Teknik, F. (2019). Pengaruh Laju Pembebanan Substrat Terhadap Produksi Asam Laktat. In *Jurnal Integrasi Proses* (Vol. 8, Issue 2).
14. Quero-Jiménez, P. C., Montenegro, O. N., Sosa, R., de La Torre, J. B., Valero Acosta, J., López Pérez, D., Santana Rodríguez, A., Ramos Méndez, R., Alonso, A. C., Corrales, A. J., & Broche Hernández, N. (2019). *Total carbohydrates concentration evaluation in products of microbial origin*.
15. Borshchevskaya, L. N., Gordeeva, T. L., Kalinina, A. N., & Sineokii, S. P. (2016). Spectrophotometric determination of lactic acid. *Journal of Analytical Chemistry*, 71(8), 755–758.
16. Rahmayetty, Kanani, N., Fauziah, I., Nurul, U., & Teknik, F. (2019). Pengaruh Laju Pembebanan Substrat Terhadap Produksi Asam Laktat. In *Jurnal Integrasi Proses* (Vol. 8, Issue 2).
17. Roni, K. A., & Herawati, N. (2012). Uji Kandungan Asam Laktat di Dalam Limbah Kubis dengan Menggunakan NaCl dan CaCl₂. *Berkala Teknik*, 2(4), 320.
18. Wardhani, A. K. (2020). Dentifikasi morfologi dan pertumbuhan bakteri pada cairan terfermentasi silase pakan ikan. *Artikel Pemakalah Paralel*.
19. Nurjannah, L., Suryani, S., Achmadi, S. S., & Azhari, A. (2017). Produksi Asam Laktat oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan Sumber Karbon Tetes Tebu. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia*, 9(1), 1–9.
20. Leoanggraini, U., & Muhadi, I. B. (2011). Fermentasi Mikroaerofilik *Lactobacillus acidophilus* untuk Produksi Probiotik. In *Industrial Research Workshop and National Seminar*.
21. Marniza dan S. Rizal. (2004). *Teknologi Fermentasi*. TPSDP Universitas Lampung. Bandar Lampung.
22. Hidayati, D. (2010). Pola Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Selama Fermentasi Susu Kedelai. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian* 3(2): 72-76.
23. Retnowati, P.A., dan J. Kusnandi. (2014). Pembuatan Minuman Probiotik Sari Buah Kurma (*Phoenix dactylifera*) dengan Isolat *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*.2(2): 70-81
24. Lengkey, Hendronoto A.W., Siwi, Jan Alex, Balia, Roostita L “The Effect of Various Starter Dosages on Kefir Quality”. *Lucrari Stiintifice-Seria Zootehnie*. 59. 2013.
25. Maryanty, Y., Lintang Wahyu Saputra, F., Prasetyo Jurusan Teknik Kimia, R., Negeri Malang, P., & Soekarno Hatta, J. (2019). *Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri Lactobacillus delbrueckii dengan Selulase dari Bakteri Bacillus subtilis dan Bacillus circulans*. 4(2), 153–161. www.jtkl.polinema.ac.id
26. Ria Barleany, D., Irawan, A., & Suhendi, E. (2015). Sintesa Asam Laktat Berbahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan *Trichoderma Reesei* dan *Lactobacillus acidophilus*. *Jurusan Teknik Kimia, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa*.
27. Tsapekos, P., Alvarado-Morales, M., Baladi, S., Bosma, E. F., & Angelidaki, I. (2020). Fermentative Production of Lactic Acid as a Sustainable Approach to Valorize Household Bio-Waste. *Frontiers in Sustainability*, 1. <https://doi.org/10.3389/frsus.2020.00004>
28. Chen, H., Niu, J., Qin, T., Ma, Q., Wang, L., & Shu, G. (2015). Optimization of the medium for *Lactobacillus acidophilus* by Plackett-Burman and steepest ascent experiment. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, 14(3), 227–232. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2015.3.24>