

PRODUCTION OF LACTIC ACID BY *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* IN A COMBINATION FERMENTATION MEDIA OF TOFU AND MANGO LIQUID WASTE (*Mangifera indica* L.)

Mellova Amir*, Neng Sopiattunnisa, Inherni Marti Abna

Progam Studi Farmasi Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Esa Unggul
Jl. Arjuna Utara No 9, Duri Kepa, Kebun Jeruk, Jakarta Barat, 11510, Indonesia

*Corresponding author: Mellova Amir (mellova.amir@esaunggul.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 2 July 2023

Revised: 15 January 2024

Accepted: 22 January 2024

Abstract

Lactic acid is a hydroxycarboxylic organic acid used for various purposes and can be obtained through the fermentation of sugar from various sources. This research aimed to determine the ability of *Lactobacillus acidophilus* in a combination of tofu and mango waste to produce lactic acid using the fermentation method. Variations in media concentration for the combination of tofu and mango liquid waste are 0%, 25%, 50%, and 100% used with the basic fermentation media. The initial stage is the cultivation of *L. acidophilus*, the growth curve, and then the fermentation process, determining the PH and levels of lactic acid produced using spectrophotometry. The research showed that *L. acidophilus*, combining tofu and mango liquid waste media, could produce lactic acid. Lactic acid levels in 0% combination media with 100% basic media were 2,040 mg/L, 25% combination media, 75% basic media, 2,081 mg/L, 50% combination media, 50% basic media, 2,316 mg/L, combination media 100 % of 2,440 mg/L. The highest levels of lactic acid were produced using a combination of 100% tofu and mango liquid waste at the 48th hour, amounting to 2,440 mg/L.

Keywords: lactic acid, *Lactobacillus acidophilus*, mango, tofu liquid waste, fermentation

PRODUKSI ASAM LAKTAT OLEH *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* DALAM MEDIA FERMENTASI KOMBINASI LIMBAH CAIR TAHU DAN MANGGA (*Mangifera indica* L.)

Abstrak

Asam laktat merupakan asam organik hidroksikarboksilat yang digunakan untuk berbagai tujuan serta dapat diperoleh melalui fermentasi gula dari sumber yang bervariasi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan *Lactobacillus acidophilus* dalam media kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga untuk menghasilkan asam laktat melalui metoda fermentasi. Variasi konsentrasi media kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga adalah 0%, 25%, 50%, 100% digunakan bersama media dasar fermentasi. Tahap awal dilakukan kultivasi *L. acidophilus*, kurva pertumbuhan, kemudian proses fermentasi, penentuan PH dan kadar asam laktat yang dihasilkan menggunakan spektrofotometri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *L.*

acidophilus dalam media kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga dapat menghasilkan asam laktat. Kadar asam laktat pada media kombinasi 0% dengan media dasar 100 % sebesar 2.040 mg/L, media kombinasi 25% media dasar 75% sebesar 2.081 mg/L, media kombinasi 50% media dasar 50% sebesar 2.316 mg/L, media kombinasi 100% sebesar 2.440 mg/L. Kadar asam laktat tertinggi dihasilkan menggunakan media kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga 100% pada jam ke-48 sebesar 2,440 mg/L.

Kata kunci: asam laktat, buah manga, *Lactobacillus acidophilus*, limbah cair tahu, fermentasi

Pendahuluan

Asam laktat merupakan asam organik hidroksikarboksilat yang paling banyak terdapat di alam. Asam laktat terdapat dalam dua bentuk isomer optik yaitu D(-) dan L(+) atau dua isomer optik campuran untuk membentuk reseemik DL- asam laktat.¹ Kebutuhan asam laktat saat ini cenderung meningkat untuk berbagai tujuan penting. Pada industri kimia, asam laktat digunakan sebagai pengatur pH, penetral dan zat pembersih.² Pada industri kosmetik, digunakan sebagai pelembab, bahan pencerah kulit, bahan peremajaan kulit, bahan anti jerawat, humektan, dan bahan anti karang gigi. Sedangkan pada industri farmasi, asam laktat digunakan sebagai bahan pembuatan kapsul dan bahan untuk penjahitan keperluan operasi, untuk stimulan kekebalan tubuh, dan sebagai sistem penghantaran obat terkontrol (*drug delivery*).³

Produksi asam laktat dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu dengan cara sintesis kimia dan fermentasi mikroba. Produksi asam laktat secara sintesis kimia berbahaya bagi tubuh manusia karena menimbulkan racun. Produksi asam laktat disintesis dengan cara menambahkan hidrogen sianida pada asetaldehid untuk memproduksi laktonitril, kemudian laktonitril dimurnikan dengan destilasi untuk menghasilkan asam laktat, ditambahkan asam klorida pekat atau asam sulfat dengan garam amonium sebagai hasil sampingnya.⁴ Produksi asam laktat dengan cara fermentasi mikroba lebih aman bagi tubuh, tidak berbahaya dan mempunyai kelebihan. Menurut Nurdyansyah⁵, salah satu kelebihanannya adalah kemurnian asam laktat yang dihasilkan tinggi yaitu berkisar antara 90 sampai 95%.

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan jenis bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai agen mikroba probiotik. Bakteri Asam Laktat (BAL) banyak digunakan untuk menghasilkan asam laktat melalui proses fermentasi, karena bakteri tersebut mampu mengubah gula menjadi asam laktat.⁶ Bakteri *Lactobacillus* dapat dibedakan dari kelompok bakteri penghasil asam yang lain karena memiliki kemampuan yang secara cepat mengkonversi sumber gula, utamanya laktosa, menjadi asam laktat.⁶ *Strain Lactobacillus* memiliki nilai komersial yang besar karena toleransi terhadap asam yang tinggi, rendemen dan produktivitas yang tinggi, serta dapat direkayasa untuk produksi selektif asam L/D-laktat.²

Pada produksi asam laktat secara fermentasi mikroba, harus disediakan nutrisi yang mendukung pertumbuhan mikroba yaitu berupa nitrogen dan karbon.⁷ Salah satu media yang dapat digunakan adalah limbah cair tahu dan buah mangga. Limbah cair tahu sebagai sumber nitrogen dan buah mangga sebagai sumber karbon. Limbah cair tahu adalah limbah yang berasal dari buangan atau sisa pengolahan yang terbuang karena tidak terbentuk dengan baik menjadi tahu sehingga tidak dapat dikonsumsi. Limbah cair tahu mengandung tinggi protein yaitu mencapai 40 sampai 60%.⁸ Karena tingginya protein yang terkandung dalam limbah cair tahu, sangat memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai campuran pada media kombinasi dengan buah mangga untuk memproduksi asam laktat. Mangga (*Mangifera indica* L.) adalah buah yang berasal dari

India kemudian tersebar luas ke seluruh daerah tropikal, termasuk Indonesia dan memiliki banyak varietas. Buah mangga mengandung karbohidrat sebesar 17 gr, glukosa sebesar 14,8 gr, protein sebesar 0,51 gr dan lemak sebesar 0,27 gr.⁹ Daging buah mangga harum manis banyak mengandung glukosa¹⁰, sehingga dengan memanfaatkan buah mangga harum manis yang banyak tersebar di pedesaan maupun di perkotaan, menjadikannya salah satu bahan alternatif yang mudah dicari untuk memproduksi asam laktat.

Di Indonesia sendiri pemanfaatan limbah cair tahu dan buah mangga masih belum optimal untuk dapat memproduksi asam laktat. Pada penelitian ini dilakukan produksi asam laktat secara fermentasi mikroba menggunakan media kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah cair tahu dan buah mangga sebagai alternatif substrat dalam memproduksi asam laktat dengan bantuan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Melalui pemanfaatan limbah cair tahu dan buah mangga ini, diharapkan dapat mengurangi limbah cair tahu dan buah mangga serta dapat memenuhi kebutuhan bahan baku asam laktat di Indonesia.

Metode

Alat

Alat yang digunakan adalah *copper* (Advance®), erlenmeyer (Iwaki®), tabung reaksi (Iwaki®), autoklaf (Tomy SX-500®), *hotplate magnetic stirrer* (79-1 Magnetic Stirrer®), neraca analitik (Sartorius®), vortex (Dragonlab®), *laminar air flow* (Lab Tach®), spektrofotometri UV-Vis (Jasco V-730®), *centrifuge* (Eppendorf®), *water bath shaker incubator* (MRC BT-150D®), jarum ose, pH indikator, kertas saring.

Bahan

Sampel uji yang digunakan adalah limbah cair tahu yang diperoleh dari pabrik pembuatan tahu dan tempe di daerah Labuan Kabupaten Pandeglang dan buah mangga harum manis yang terlalu matang diperoleh dari pedagang buah di pasar tradisional daerah Labuan Kabupaten Pandeglang. Buah mangga (*Mangifera indica* L.) yang digunakan sudah dideterminasi oleh Pusat Penelitian Biologi LIPI merupakan jenis *Mangifera indica* L. dan suku Anacardiaceae., bakteri Isolat *Lactobacillus acidophilus* didapatkan dari *Divisi Food and Nutrition Culture Collection* (FNCC) Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada, MRSA (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*) MRSB (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*), asam laktat standar, C₆H₅OH (Merck), H₂SO₄ (Merck), FeCl₃ (Merck), NaOH, (Merck), pH buffer (MitraLab) dan aquadest.

Prosedur

Pembuatan media kombinasi limbah cair tahu dan mangga

Media kombinasi limbah cair tahu dan mangga dibuat dengan terlebih dahulu membuat masing-masing supernatan limbah cair tahu dan mangga, kemudian dicampurkan dengan perbandingan yang sama. Limbah cair tahu dibuat dengan menyiapkan sebanyak 1 liter limbah cair tahu, disaring menggunakan kain blacu hingga didapatkan cairan sebanyak 700 mL dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Limbah mangga matang diambil sebanyak 3 kg, dicuci bersih dengan air mengalir, kulitnya dikupas dan daging buahnya dipisahkan dengan bijinya. Daging buahnya dihaluskan menggunakan *copper* sampai menjadi suspensi, kemudian disaring menggunakan kain blacu, diambil filtratnya dan disentrifuge dengan kecepatan 7000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan supernatan dan pelletnya. Diambil supernatannya sebanyak 700 mL,

lalu supernatan tersebut dicampurkan dengan limbah cair tahu sehingga didapatkan limbah kombinasi sebanyak 1400 mL (supernatant mangga dan limbah cair tahu 1:1)

Media limbah kombinasi dibuat 4 variasi konsentrasi untuk 4 perlakuan yaitu:

- A. 0% limbah kombinasi dan 100% media dasar fermentasi
- B. 25% limbah kombinasi dan 75% media dasar fermentasi
- C. 50% limbah kombinasi dan 50% media dasar fermentasi
- D. 100% limbah kombinasi dan 0% media dasar fermentasi

Pembuatan media dasar fermentasi

Susunan media dasar fermentasi yang digunakan dibuat berdasarkan *Plackett-Burman* dan *Steepest*.¹¹ Komposisi Media Dasar Fermentasi adalah: Pepton 10 g, *Beef extract* 8 g, *Yeast extract powder* 4 g, Glukosa 20 g, K_2HPO_4 2 g, $C_6H_{12}O_7N_2$ 2 g, $MgSO_4$ 0,2 g, Tween 80 1 g. Masing-masing media dasar fermentasi ditimbang dengan seksama, dilarutkan menggunakan aquades sampai 1 liter di dalam gelas beker 1 liter. Kemudian dipanaskan menggunakan *hotplate magnetic stirrer* dengan suhu 70°C dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer sesuai kebutuhan, mulut erlenmeyer disumbat dengan menggunakan tutup gabus untuk disterilisasi dengan autoklaf pada tekanan 1 atm, suhu 121°C selama 15 menit. Setelah didinginkan media siap untuk digunakan. Susunan media dasar fermentasi yang digunakan dibuat berdasarkan *Plackett-Burman* dan *Steepest*.¹¹

Pembuatan media MRSB

Media MRSB (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*) ditimbang sebanyak 52 gram lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1 liter dan dilarutkan dengan aquades hingga 1 liter di atas *hotplate magnetic stirrer* dengan suhu 60°C, ketika media sudah larut selanjutnya erlenmeyer 1 liter berisi MRSB disumbat dengan menggunakan tutup gabus untuk disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm dan setelahnya disimpan di refrigerator.

Pembuatan media MRSA

MRSA (*de Man Rogosa and Sharpe Agar*) ditimbang sebanyak 62 gram lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer 1 liter dan dilarutkan dalam 1 liter aquades di atas *hotplate magnetic stirrer* dengan suhu 60°C, jika media sudah larut maka didinginkan sebentar pada suhu ruang, selanjutnya untuk membuat agar miring, media MRSA dituangkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya tabung reaksi yang berisi MRSA ditutup menggunakan tutup ulir untuk disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Untuk membuat agar miring, Tabung reaksi yang berisi MRSA dimiringkan sampai menjadi agar. Jika telah menjadi agar, selanjutnya disimpan di refrigerator.¹²

Peremajaan Kultur *Lactobacillus acidophilus*

Peremajaan kultur *L acidophilus* FNCC 0051 bertujuan untuk memulai metabolisme kembali agar bakteri dalam kondisi segar saat dilakukan penelitian. Peremajaan kultur *L. acidophilus* FNCC 0051 dibuat dengan mengambil biakan *L. acidophilus* FNCC 0051 sebanyak satu ose lalu digoreskan secara *streak plate* pada agar miring media MRSA dan diinkubasi menggunakan inkubator selama 24 jam pada suhu 37°C. Peremajaan bakteri ini dilakukan di dalam laminar *air flow* untuk menghindari terjadinya kontaminasi.¹³

Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*

Kurva pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan sebagai dasar penentu lama waktu fermentasi oleh *L. acidophilus* dan mengetahui fase logaritmik

dari sebuah mikroba.¹⁴ Pembuatan kurva pertumbuhan *L. acidophilus* diawali dengan kultur dari media agar miring diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam erlenmeyer berisi media MRSB sebanyak 200 mL. Kemudian diinkubasi menggunakan *waterbath shaker incubator* selama 30 jam pada suhu 37°C dengan kecepatan 150 rpm. Kemudian dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) setiap 2 jam sekali berdasarkan nilai absorbansinya. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm.¹⁵

Inokulasi *Lactobacillus acidophilus*

Inokulasi *L. acidophilus* dilakukan untuk mendapatkan media biakan induk yang akan digunakan untuk fermentasi.¹⁶ Sebanyak satu ose biakan *Lactobacillus acidophilus* dari media agar miring diinokulasikan ke dalam erlenmeyer berisi 200 mL media MRSB lalu ditutup menggunakan penutup gabus. Selanjutnya di *shaker* menggunakan *waterbath shaker incubator* selama 20 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C.

Proses Fermentasi

Proses fermentasi dilakukan untuk mendapatkan asam laktat yang merupakan hasil fermentasi dari *L. acidophilus* dalam media fermentasi. Siapkan 4 buah erlenmeyer 250 mL masing-masing untuk media limbah kombinasi A,B,C dan D. Fermentasi dilakukan dengan mengambil sebanyak 10% dari media biakan induk yang mengandung *L. acidophilus*, lalu diinokulasikan secara aseptik ke dalam erlenmeyer masing-masing A,B,C dan D. Semua erlenmeyer di *shaker* menggunakan *waterbath shaker incubator* selama 48 jam dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan penyamplingan setiap 4 jam sekali dengan menggunakan mikropipet, dipipet sebanyak 5 mL dimasukkan ke dalam tabung *centrifuge eppendorf* steril dan sampel langsung disentrifugasi pada kecepatan 7000 rpm selama 5 menit lalu disimpan di dalam *freezer* dengan suhu -20°C untuk selanjutnya dilakukan analisis *Optical Density*, pH media fermentasi kadar gula sisa dan asam laktat.¹⁷

Analisis Ph

Selama proses fermentasi dilakukan pengukuran pH untuk melihat kondisi dan perubahan pH yang terjadi selama fermentasi. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH indikator universal dengan cara mengukur semua sampel hasil penyamplingan lalu dicatat nilai pHnya.¹⁸

Analisis Kadar Glukosa

Kadar glukosa dianalisis selama proses fermentasi bertujuan untuk melihat perubahan yang terjadi selama proses fermentasi berlangsung. Analisis menggunakan metode kolorimetri dimana karbohidrat didehidrasi melalui reaksi dengan asam sulfat pekat akan menghasilkan turunan furfural, selanjutnya senyawa turunan furfural dan fenol menghasilkan warna kuning-jingga yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer uv-vis. Larutan hasil fermentasi dipipet 1 mL dan ditambahkan 1 mL fenol 5%, larutan dihomogenkan kemudian ditambahkan 5 mL larutan H₂SO₄ 98% secara cepat dengan cara menuangkan secara tegak lurus. Larutan didiamkan selama 10 menit dan selanjutnya dihomogenkan menggunakan vortex selama 30 detik dan kemudian ditempatkan pada penangas air selama 15 menit dengan suhu 40°C.¹⁹ Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 485 nm.

Analisis Kadar Asam Laktat

Kadar asam laktat yang dihasilkan selama fermentasi berlangsung di tentukan dengan metode spektrofotometri. Larutan uji sebanyak 0,05 mL ditambahkan dengan larutan FeCl₃ sebanyak 2 mL dan dihomogenkan selama 1 menit. Kemudian dianalisis

menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 370 nm. Reaksi dan pengukurannya dilakukan pada suhu ruang. Reaksi FeCl_3 dengan asam laktat menghasilkan warna hijau kekuningan.²⁰

Isolasi Asam Laktat

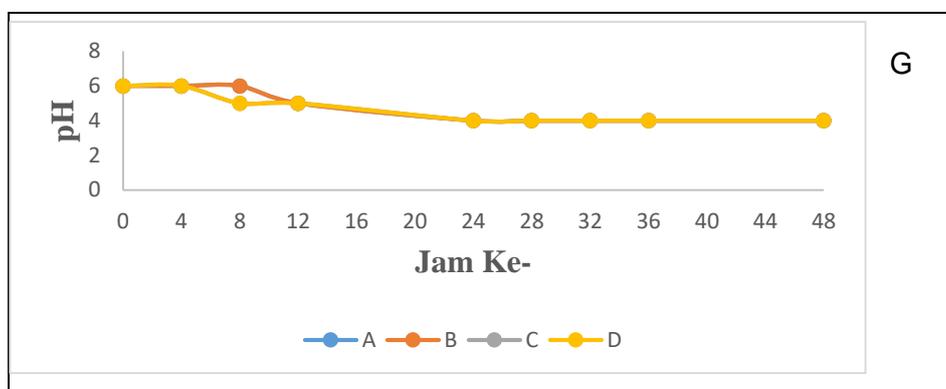
Cairan hasil fermentasi ditambahkan dengan kalsium hidroksida (Ca(OH)_2) 1% (b/b), sehingga terbentuk endapan kalsium laktat. Selanjutnya dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring *whatman* no 42. Hasil dari penyaringan ditambahkan larutan asam sulfat (H_2SO_4) 0,1 M pada suhu 70°C menggunakan *hotplate* sehingga akan menghasilkan kalsium sulfat dan asam laktat. Kemudian disaring sehingga asam laktat dan kalsium sulfat terpisah.²¹

Analisis Data

Data yang didapatkan dianalisis menggunakan analisis statistik regresi linier pada kadar asam laktat. Uji ANOVA dengan menggunakan SPSS untuk menguji adanya pengaruh variasi konsentrasi media kombinasi limbah cair dan tahu buah mangga. Apabila terdapat perbedaan yang nyata maka dilakukan dengan uji DMRT pada taraf 5%.²²

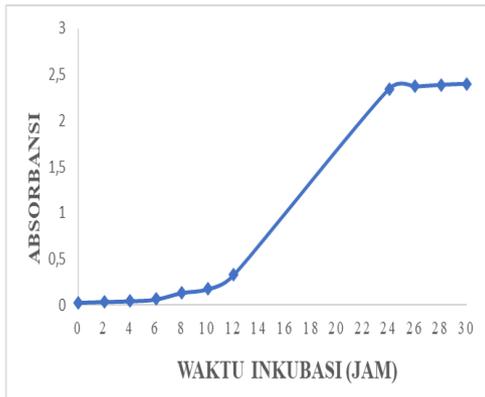
Hasil

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

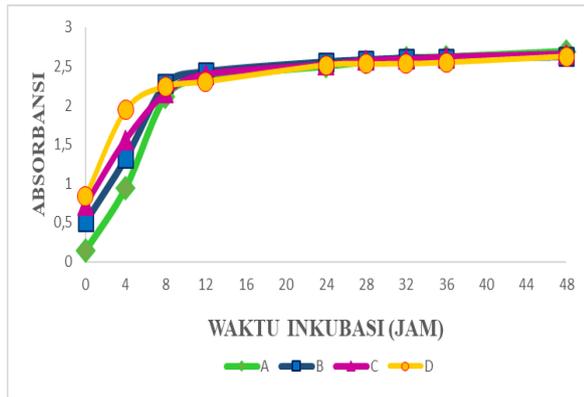


Gambar 1. Perubahan pH pada pertumbuhan *L. acidophilus* dalam media fermentasi kombinasi

Selama proses fermentasi terjadi penurunan pH, Pada jam ke-0 sebelum proses fermentasi sampai jam ke 4 semua variasi A, B, C dan D berada pada pH 6, Untuk variasi A dan B pada jam ke-8 masih berada pada pH 6, sedangkan untuk variasi C dan D pada jam ke-8 sudah mengalami penurunan pH yaitu berada pada pH 5, sampai akhir ada pada PH 4.

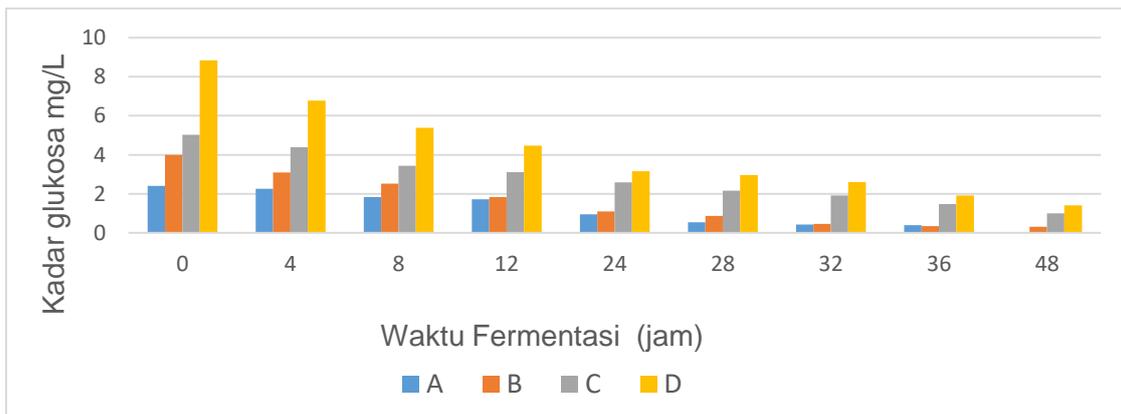


Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dalam MRSB



Gambar 3. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* dalam media limbah kombinasi fermentasi

Pada media dasar fermentasi MRSB, *L. acidophilus* mengalami fase adaptasi pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-4, Pada jam ke 6-24 terjadi fase logaritmik, selanjutnya *Lactobacillus acidophilus* mengalami fase stasioner sampai jam ke-30 (gambar 2). Pada media limbah kombinasi yang terjadi selama proses fermentasi. *L. acidophilus* dalam media fermentasi tersebut tidak terdapat fase lag (adaptasi), fase logaritmik mulai dari jam ke-0 sampai jam ke-12 dan fase stasioner terjadi pada jam ke 24. (gambar 3)

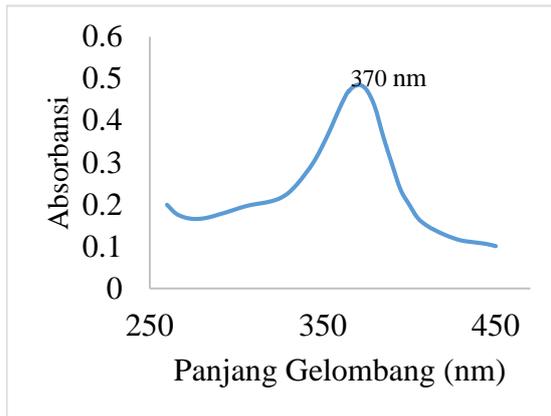


Gambar 4. Kadar glukosa pada media fermentasi limbah kombinasi

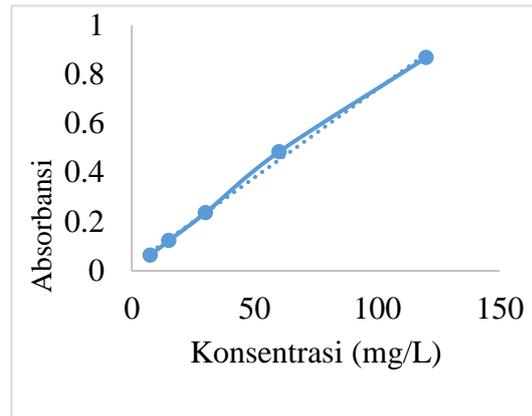
Keterangan:

- A. 100% media dasar fermentasi
- B. 25% limbah kombinasi, 75% media dasar fermentasi
- C. 50% limbah komb. 50% media dasar fermentasi
- D. 100% limbah kombinasi

Kadar gula selama proses fermentasi pada awal (jam ke-0) yang paling rendah terdapat pada variasi A yaitu sebesar 2,412 mg/L, sedangkan gula sampel awal yang paling tinggi terdapat pada variasi D yaitu sebesar 8,829 mg/L. Pada jam ke-4 sampai jam ke-48 kadar glukosa variasi A, B, C dan D terus mengalami penurunan.

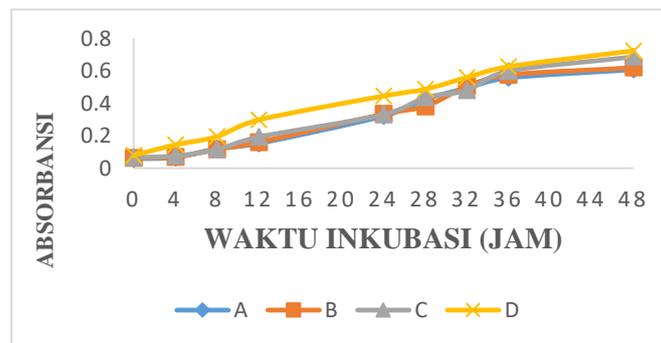


Gambar 5. Kurva panjang gelombang maksimum asam laktat



Gambar 6. Kurva standar asam laktat

Pada penentuan kadar asam laktat menggunakan spektrofotometri, panjang gelombang maksimum didapat pada 370 nm. Penentuan kurva standar asam laktat diperoleh persamaan regresi $y = 0.0072x + 0.0215$ dengan $R^2 = 0.9966$.



Gambar 7. Hasil absorbansi asam laktat pada proses Fermentasi

Tabel 1. Kadar Asam Laktat pada Proses Fermentasi *L. acidophilus* dalam Media Fermentasi

Jam	Kadar Asam laktat (g/L)			
	A	B	C	D
0	0.126	0.146	0.158	0.203
4	0.154	0.168	0.190	0.425
8	0.343	0.333	0.329	0.602
12	0.455	0.481	0.596	0.961
24	1.044	1.087	1.077	1.472
28	1.401	1.250	1.444	1.616
32	1.644	1.680	1.597	1.868
36	1.863	1.926	2.010	2.101
48	2.040	2.081	2.316	2.440

Keterangan: A. 0% limbah kombinasi dan 100% media dasar fermentasi
 B. 25% limbah kombinasi dan 75% media dasar fermentasi
 C. 50% limbah kombinasi dan 50% media dasar fermentasi

D. 100% limbah kombinasi dan 0% media dasar fermentasi

Limbah kombinasi= (supernatant mangga dan limbah cair tahu,1;1)

Peningkatan kadar asam laktat terjadi selama proses fermentasi dan adanya peningkatan nilai absorbansi asam laktat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 370 nm (gambar 7 dan tabel 1). Kadar asam laktat yang terjadi berbeda pada kelompok A,B,C dan D. limbah kombinasi tahu dan mangga dan media dasar fermentasi berkisar antara 2,04-2,44 g/L yang diukur pada jam ke 48.

Pembahasan

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis *L. acidophilus*. Isolat yang diperoleh diregenerasi di dalam media MRSA. Regenerasi adalah tindakan pembaharuan, pertumbuhan dalam memperbanyak sel pada bakteri. Regenerasi penting untuk dilakukan karena akan mendapatkan biakan bakteri yang baru dan aktif serta dapat optimal untuk proses fermentasi.²³ Pertumbuhan *L. acidophilus* ditandai dengan meningkatnya nilai densitas (kekeruhan) medium yang sejalan dengan lamanya waktu inkubasi, hal tersebut menyebabkan sel dapat melakukan reproduksi atau pembelahan, tetapi masih beradaptasi dengan medium atau lingkungan barunya.²⁴

Pada media MRSB, *L. acidophilus* mengalami fase adaptasi pada jam ke-0 sampai dengan jam ke-4, ini menunjukkan bahwa waktu adaptasi bakteri asam laktat memiliki waktu yang relatif singkat yaitu tumbuh pada waktu 0-4 jam. Pada waktu 6-24 jam terjadi fase logaritmik yang ditandai dengan adanya pertumbuhan signifikan pada pertumbuhan sel-selnya. Selanjutnya *L. acidophilus* mengalami fase stasioner sampai jam ke-30. Dalam fase stasioner ini adanya penurunan pH, dan adanya peningkatan kadar asam dalam produk fermentasi (gambar 1, tabel 1). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian lain yang mendapatkan adanya penurunan pH dengan bertambahnya umur kultur dari *L. acidophilus*.²⁵

Pada proses fermentasi dengan media limbah kombinasi, terjadi perubahan warna dan kekeruhan. Hal ini terjadi karena adanya pertumbuhan bakteri yang terjadi selama proses fermentasi. *L. acidophilus* dalam media fermentasi tersebut tidak terdapat fase lag (adaptasi), hal ini terjadi karena *L. acidophilus* telah diadaptasikan secara bertahap dan bakteri sudah diaktifkan pada media MRSB sehingga telah aktif mensintesis enzim-enzim yang diperlukan untuk metabolisme.²⁶ Pada jam ke-0 sampai jam ke-12, *Lactobacillus acidophilus* dalam media fermentasi mengalami fase logaritmik. Menurut Maryanty Y,²⁷ pada fase ini *L. acidophilus* berada dalam keadaan pertumbuhan yang seimbang, masa dan volume sel meningkat oleh faktor yang sama dalam arti rata-rata komposisi sel dan konsentrasi metabolit relatif tetap konstan. Fase stasioner terjadi sampai jam ke-48. Pada fase ini, bakteri sudah mulai kehilangan nutrisi dan terjadi penumpukan produk metabolit atau toksik yang menyebabkan penurunan jumlah sel bakteri dan pada akhirnya diikuti fase kematian dari bakteri.²⁷

Selama proses fermentasi akan terjadi penurunan pH karena adanya penumpukan asam laktat sebagai hasil dari proses fermentasi yang terbentuk, dapat dilihat pada tabel 1. Perbedaan nilai pH sebelum fermentasi dan sesudah fermentasi terjadi karena aktivitas bakteri asam laktat sehingga menghasilkan asam.²⁶ Hasil analisis pH asam laktat menunjukkan bahwa variasi media fermentasi perlakuan A, B, C dan D pada jam ke-0 sebelum proses fermentasi berada pada pH 6, pada jam ke-4 juga masih berada pada pH 6. Untuk variasi A dan B pada jam ke-8 masih berada pada pH 6, sedangkan untuk variasi C dan D pada jam ke-8 sudah mengalami penurunan pH yaitu berada pada pH 5. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan pH lebih cepat terjadi karena volume media fermentasi limbah kombinasi lebih banyak sehingga menyebabkan asam lebih tinggi dan terbentuknya asam laktat selama proses fermentasi. Limbah mangga yang kaya karbohidrat, lemak dan protein serta limbah cair tahu mengandung protein yang tinggi sangat baik sebagai substrat fermentasi *L. acidophilus*. Hal ini menyebabkan limbah

kombinasi ini dapat meningkatkan optimasi proses fermentasi yang menghasilkan asam organik, Pada jam ke-12, semua variasi berada pada pH 5. Pada jam ke-24 sampai jam ke-48 juga menunjukkan adanya perubahan pH yang lebih asam yaitu berada pada pH 4 untuk semua variasi konsentrasi limbah fermentasi, hal ini menunjukkan bahwa asam laktat yang dihasilkan akan semakin tinggi.

Proses fermentasi akan mempengaruhi kadar glukosa pada media fermentasi laktat (gambar 4). Kadar glukosa yang paling rendah pada awal fermentasi terdapat pada variasi A, fermentasi tanpa media kombinasi yaitu sebesar 2,412 mg/L, sedangkan gula sampel awal yang paling tinggi terdapat pada variasi D (media limbah kombinasi 100 %) yaitu sebesar 8,829 mg/L, hal ini menunjukkan bahwa media limbah kombinasi tanpa campuran media dasar fermentasi mengandung gula yang tinggi dan *L. acidophilus* dapat beradaptasi dengan baik pada media tersebut. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Mansyur,²⁸ dengan tidak menambahkan media lain hanya menggunakan media fermentasi saja menghasilkan glukosa yang paling tinggi dibandingkan dengan variasi yang menambahkan media lain seperti MRSB. Terjadi penurunan kadar glukosa sampai pada jam ke 48 pada proses fermentasi, diikuti dengan peningkatan kadar asam laktat dan penurunan PH.

Peningkatan kadar asam laktat terjadi selama proses fermentasi dapat dilihat pada tabel 3 dan dapat dilihat juga dengan adanya peningkatan nilai absorbansi asam laktat diukur dengan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 370 nm (gambar 7 dan tabel 1). Kadar asam laktat yang terjadi berbeda pada kelompok A,B,C dan D. Semakin banyak proporsi penggunaan media limbah kombinasi air kelapa dan mangga dibandingkan dengan proporsi media dasar fermentasi MRSB sebagai media fermentasi terbukti menghasilkan kadar asam laktat semakin meningkat. Hal ini disebabkan semakin tinggi sumber karbohidrat, protein pada media fermentasi sebagai substrat. Kadar asam laktat ini lebih besar dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang melakukan fermentasi menggunakan *Lactobacillus acidophilus* dalam media limbah air kelapa yang menghasilkan asam laktat sebesar 1,77 g/L dan 0,568 g/L dalam media TKKS (Tandan Kosong Kelapa Sawit).^{17,21,29} Perbedaan kadar asam laktat yang dihasilkan dari penelitian sebelumnya dapat disebabkan karena lamanya waktu fermentasi dan perbedaan jenis substrat yang digunakan.

Hasil yang menonjol pada penelitian ini adalah bahwa fermentasi oleh *L. acidophilus* hanya menggunakan media limbah kombinasi cairan tahu dan mangga (kelompok D) tanpa pemberian media dasar fermentasi menghasilkan lebih tinggi kadar asam laktatnya dibandingkan dengan pemberian 50% media dasar fermentasi (kelompok C). Kenyataan ini menunjukkan bahwa tanpa pemberian media dasar fermentasi, media fermentasi limbah kombinasi cairan tahu dan mangga sudah memproduksi asam laktat yang cukup tinggi. Hal ini didukung dengan data hasil fermentasi limbah kombinasi mempunyai kandungan glukosa yang paling tinggi (8,829 mg/L). Jika dilihat dari sudut ekonomi, fermentasi dari media fermentasi limbah kombinasi tanpa media dasar fermentasi (MRSB) akan lebih murah dan efisien dalam memproduksi asam laktat.²⁸

Analisis Data

Berdasarkan hasil analisis uji statistik *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa antar perlakuan media fermentasi limbah kombinasi tidak memberikan pengaruh signifikan ($\text{sig} > 0,05$) terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan dan didapatkan hasil kadar asam laktat tertinggi pada variasi D sehingga tidak perlu dilakukan uji DMRT.²

Kesimpulan

Kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga dengan perbandingan 1:1 dapat digunakan sebagai media untuk fermentasi menghasilkan asam laktat oleh *L.*

acidophilus. Variasi konsentrasi dari kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga (0%, 25%, 50%, 100%) bersama media dasar fermentasi (100%, 75%, 50%, 0%) dapat mempengaruhi jumlah produksi asam laktat. Kadar asam laktat tertinggi yang dihasilkan oleh *L. acidophilus* yaitu dengan menggunakan media kombinasi limbah cair tahu dan buah mangga 100 % tanpa penambahan media dasar fermentasi (0%) pada jam ke-48 fermentasi sebesar 2,440 mg/L.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan pada:

1. Prof. Dr. apt. Aprilita Rina Yanti Eff, M. Biomed, selaku Dekan Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul Jakarta.
2. Dr. apt. Sri Teguh Rahayu, M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi Universitas Esa Unggul Jakarta.

Daftar Pustaka

1. Taleghani HG, Najafpour GD, Ghoreyshi AA. Batch and continuous production of lactic acid using *Lactobacillus bulgaricus* (ATCC 8001). *J Biotechnol* [Internet]. 2014;11(1):1–12. Available from: www.pjbt.org
2. Anggraini Pujasari. Pengaruh jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum terhadap produksi asam laktat dari air kelapa. [Malang]: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.; 2019.
3. Abedi E, Hashemi SMB. Lactic acid production – producing microorganisms and substrates sources-state of art. *Heliyon*. 2020;6(10):1–32.
4. Huang S, Vignolles ML, Chen XD, Le Loir Y, Jan G, Schuck P, et al. Spray drying of probiotics and other food-grade bacteria: a review. *Trends Food Sci Technol*. 2017;63:1–17.
5. Nurdyansyah F, Hasbullah UHA. Optimasi fermentasi asam laktat oleh *Lactobacillus casei* pada media fermentasi yang disubstitusi tepung kulit pisang. *Al-Kauniyah J Biol*. 2018;11(1):64–71.
6. Rahmadi A. *Bakteri asam laktat dan mandai cempedak*. Mulawarman University Press. Samarinda: Mulawarman University Press; 2019.
7. Vera-Peña MY, Hernández-García H, Valencia-García FE. Kinetic modeling of lactic acid production, co-substrate consumptions and growth in *Lactiplantibacillus plantarum* 60-1. *DYNA*. 2022;89(224):51–9.
8. Nohong. Pemanfaatan limbah tahu sebagai bahan penyerap logam krom, kadmiun dan besi dalam air lindi tpa. *J Pembelajaran Sains*. 2010;6(2):257–69.
9. Masriatini R. Pengaruh waktu dan massa zat asam benzoat terhadap kadar vitamin c dalam pembuatan sirup mangga. *J Redoks*. 2018;1(2):50–5.
10. Lucia C. Mandey CFM. Teknologi produksi jam mangga (*Mangifera indica*). *J Ilmu dan Teknol Pangan*. 2016;4(1):28–35.
11. Chen H, Niu J, Qin T, Ma Q, Wang L, Shu G. Optimization of the medium for *Lactobacillus acidophilus* by Plackett-Burman and steepest ascent experiment. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 2015;14(3):227–32.
12. Setiarto RHB, Widhyastuti N, Saskiawan I, Safitri RM. Pengaruh variasi konsentrasi inulin pada proses fermentasi oleh *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. *Biopropal Ind*. 2017;8(1):1–17.
13. Rosmania R, Yanti F. Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri. *J Penelit Sains*. 2020;22(2):76–86.
14. Mechmeche M, Kachouri F, Yaghlane HB, Ksontini H, Setti K, Hamdi M. Kinetic analysis and mathematical modeling of growth parameters of *Lactobacillus*

- plantarum in protein-rich isolates from tomato seed. *Food Sci Technol Int.* 2017;23(2):128–41.
15. Sharah A, Karnila R, Desmelati. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat yang di isolasi dari ikan peda kembung (*Rastrelliger sp.*). *JOM.* 2015;1–8.
 16. Siburian RR, Ahmad A, Muria R, Jurusan M, Kimia T, Jurusan D. Pengaruh inokulasi inokulum dalam pembuatan bioetanol dari pelepah sawit menggunakan *Saccharomyces cerevisiae*. *JOM FTEKNIK.* 2015;2(2):1–7.
 17. Ratna R, Triovanta U, Darwin D. Produksi asam laktat dari fermentasi limbah cair olahan kelapa dengan variasi konsentrasi Inokulum *Lactobacillus acidophilus*. *J Serambi Eng.* 2020;5(4):1398–405.
 18. Devirizanty D, Nurmawati S, Hartanto C. Perbandingan unjuk kinerja berbagai tipe ph meter digital di laboratorium kimia. *J Pengelolaan Lab Sains dan Teknol.* 2021;1(1):1–9.
 19. Quero-Jimenez PC, Montenegro ON, Sosa R, Torre JBD La, Acosta JV, Perez DL, et al. Total carbohydrates concentration evaluation in products of microbial origin. *Afinidad.* 2019;76(587):195–203.
 20. Borshchevskaya LN, Gordeeva TL, Kalinina AN, Sineokii SP. Spectrophotometric determination of lactic acid. *J Anal Chem.* 2016;71(8):787–90.
 21. Ria Barleany D, Irawan A, Suhendi E. Sintesa asam laktat berbahan baku tandan kosong kelapa sawit menggunakan *Trichoderma reseei* dan *Lactobacillus acidipillus*. In: *Seminar Nasional Sains dan Teknologi.* Jakarta: Fakultas Teknik Universitas Muhammadiyah Jakarta; 2015. p. 1–7.
 22. Rizqiati H, Ramadhanti DL, Prayoga MIY. Pengaruh variasi konsentrasi sukrosa terhadap total bakteri asam laktat, pH, kadar alkohol dan hedonik water kefir belimbing manis (*Averrhoa carambola*). *J Ilm Sains.* 2021;21(1):54–62.
 23. Freire AL, Ramos CL, Schwan RF. Microbiological and chemical parameters during cassava based-substrate fermentation using potential starter cultures of lactic acid bacteria and yeast. *Food Res Int.* 2015;76(Pt. 3):787–95.
 24. Rahmawati A, Astuti. Asimilasi kolesterol dan dekonjugasi garam empedu oleh Bakteri Asam Laktat (BAL) dari limbah kotoran ayam secara in vitro. In: *Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA.* Yogyakarta: Jurusan Pendidikan Biologi FMIPA UNY.; 2010.
 25. Sulistijowati R. Potensi filtrat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol. *Indones J Appl Sci.* 2012;2(2):58–63.
 26. Rum IA. Optimasi pembuatan cocogurt (yogurt santan kelapa) dengan kultur campuran *Lactobacillus acidophilus* Moro dan *Streptococcic thermophils* Orla-Jensen. In: *International Seminar Biotechnology.* 2009. p. 8–14.
 27. Maryanty Y, Saputra FLW, Prasetyo R. Pembuatan asam laktat dari selulosa oleh bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan selulase dari bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus circulans*. *J Tek Kim dan Lingkung.* 2020;4(2):153–61.
 28. Dhalika T, Hernaman I, Budiman A, Islami R, F Wiyatna dan M. Produksi asam laktat dalam fermentasi anerob limbah air kedelai dari industri tempe. 2018.
 29. Komesu A, Maciel MRW, Filho RM. Separation and purification technologies for lactic acid - A brief review. Vol. 12, *BioResources.* 2017. p. 6885–901.