

PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT TEPUNG KULIT PISANG KEPOK DAN KECEPATAN PENGADUKAN TERHADAP PERTUMBUHAN *Lactobacillus acidophilus*

Ikha Agustina Setyowulan, Enny Purwati Nurlaili, Fafa Nurdyansyah, dan Umar Hafidz Asy'ari Hasbullah

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik dan Informatika, Universitas PGRI Semarang
Email: ikhaagustina08@gmail.com

ABSTRAK

Penggunaan tepung kulit pisang sebagai substrat dapat dimanfaatkan sebagai alternatif media fermentasi yang murah untuk menghasilkan asam laktat dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi substrat tepung kulit pisang kepok dan kecepatan pengadukan (agitasi) terhadap pertumbuhan biomassa dan produksi asam laktat pada proses fermentasi asam laktat. Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan faktorial dengan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan perlakuan konsentrasi substrat tepung kulit pisang (3%, 5%, 7%) dan kecepatan pengadukan (100 rpm, 150 rpm). Penelitian dilakukan dengan memproses kulit pisang kepok menjadi tepung melalui proses pengeringan, penggilingan, dan pengayakan. Tepung kulit pisang kemudian dihidrolisis dan difiltrasi. Filtrat digunakan dalam proses fermentasi sebagai substrat bagi pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tepung kulit pisang kepok menghasilkan rendemen sebanyak 9,37% dengan karakteristik fisik yaitu berwarna coklat kehitaman, beraroma normal, dan berbentuk bubuk. Karakteristik kimia yang dihasilkan meliputi kadar air sebesar 5,99%, pH 5,65, dan total gula sebesar 1,19%. Perlakuan konsentrasi substrat tepung kulit pisang kepok dan kecepatan pengadukan (agitasi) memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan biomassa sel bakteri *Lactobacillus acidophilus*, namun tidak berpengaruh nyata terhadap nilai pH, total asam laktat tertitrasi (TAT) dan total gula, sedangkan hasil perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan konsentrasi substrat 5% dan kecepatan pengadukan 100 rpm yang menghasilkan biomassa 3,07 g/l dan total asam laktat tertitrasi 1,05%.

Kata kunci-agitasi; bakteri asam laktat; fermentasi; *Musa paradisiaca* l.

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara penghasil pisang terbesar. Hal ini dibuktikan dengan data yang menyatakan bahwa hampir 50% produksi pisang di Asia dihasilkan oleh negara Indonesia dengan produksi mencapai 6.2 juta ton per tahun (Kusuma dan Zubaidah, 2016). Persentase kulit pisang sebesar 40% dari total jumlah berat buah pisang, dimana pada umumnya kulit pisang hanya dibuang begitu saja tanpa dimanfaatkan sehingga akan menjadi limbah (Kusuma dan Zubaidah, 2016). Kulit pisang mengandung senyawa yang potensial untuk dikembangkan seperti serat pangan dan oligosakarida, hal ini dikarenakan kedua senyawa tersebut merupakan karbohidrat yang tidak dapat dicerna dan keduanya dapat difermentasi oleh mikroba, sehingga komponen tersebut dapat digunakan sebagai substrat oleh bakteri asam laktat untuk tumbuh dan menghasilkan produk akhir berupa asam laktat yang dapat dimanfaatkan untuk berbagai kebutuhan, seperti diolah menjadi *poly lactic acid* (PLA) yang nantinya dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan plastik *biodegradable* atau ramah lingkungan. Salah satu jenis kulit pisang yang dapat digunakan sebagai substrat bagi pertumbuhan bakteri asam laktat adalah kulit pisang kepok, dimana kulit pisang jenis ini belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat dan kandungan karbohidrat yang dimilikinya cukup tinggi yaitu mencapai 18,5% (Setiawati *et al.*, 2013).

Asam laktat merupakan salah satu asam organik yang memiliki banyak manfaat dan kegunaan, dimana sangat potensial untuk diproduksi dalam skala besar. Perdagangan asam laktat dan *lactate* (termasuk polimer) secara global mencapai 100.000 ton per tahun. Pemanfaatan sebesar 70% dari total asam laktat yang diperdagangkan digunakan dalam makanan dan pengolahan makanan sebagai pengatur pH, bahan pengawet dan larutan penyangga (Bo *et al.*, 2005). Kegunaan asam laktat selain sebagai bahan pengawet makanan yaitu sebagai bahan baku industri polimer *biodegradable*, *oxygenated chemicals*, pengatur pertumbuhan tanaman, dan pelarut yang ramah lingkungan. Salah satu terapan

yang paling menjanjikan dari asam laktat adalah sebagai bahan baku pembuatan PLA (*poly lactic acid*) yang bersifat *biodegradable* dan biokompatibel sebagai alternatif pengganti plastik *non-biodegradable* yang dihasilkan dari minyak bumi, batu bara atau gas alam (Bo *et al.*, 2005).

Fermentasi asam laktat melalui bantuan mikroorganisme atau dalam hal ini adalah bakteri telah banyak dikembangkan, salah satunya dengan menggunakan bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* merupakan bakteri homofermentatif yaitu bakteri yang memproduksi asam laktat sebagai satu-satunya produk akhir dimana bakteri ini menggunakan laktosa sebagai sumber karbon utama dalam memproduksi energi. *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh baik dengan oksigen ataupun tanpa oksigen, dan bakteri ini dapat hidup pada lingkungan yang asam pada pH 4-5 atau dibawahnya pada suhu berkisar 25-35°C (Nazzaro *et al.*, 2009).

Proses fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu kadar gula, aerasi (CO₂), pH, medium, mineral, faktor tumbuh, suhu, agitasi dan jenis mikroorganisme (Judoamidjojo, 1990). Setiap bakteri akan menunjukkan pola pertumbuhan yang berbeda-beda, seperti perbedaan periode waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh maupun beradaptasi, dan perbedaan metabolit yang dihasilkan. Salah satu faktor-faktor pertumbuhan mikroba tersebut yang diteliti dalam penelitian ini adalah konsentrasi substrat dan agitasi. Konsentrasi substrat yang semakin tinggi akan semakin meningkatkan produksi metabolit oleh mikroba, sedangkan agitasi yang sesuai dengan kriteria pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* akan semakin meningkatkan kemampuan bakteri tersebut untuk tumbuh dan bermetabolisme secara maksimal.

Beberapa penelitian menggunakan konsentrasi jenis substrat tertentu dan kecepatan pengadukan (agitasi) sebagai faktor pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) untuk menghasilkan asam laktat. Salah satunya yaitu penelitian yang dilakukan oleh Febriningrum (2013), dimana dalam penelitian tersebut menggunakan substrat kulit nanas yang terdiri dari konsentrasi 100 g/l hingga 600 g/l dan kecepatan pengadukan (agitasi) 50 rpm, 150 rpm, dan 250 rpm dengan memanfaatkan bakteri *Lactobacillus plantarum*. Penelitian tersebut memberikan hasil pertumbuhan bakteri *Lactobacillus plantarum* optimum pada konsentrasi substrat 500 g/l dan kecepatan pengadukan 150 rpm. Penelitian lain yang menggunakan jenis substrat yang sama yaitu limbah kulit pisang, dilakukan oleh Kusuma dan Zubaidah (2016) dengan menggunakan 3 (tiga) jenis kulit pisang yaitu kulit pisang ambon, pisang raja, dan pisang kepok, dan 2 (dua) jenis bakteri yaitu *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum*. Penelitian ini memberikan hasil terbaik pada kondisi fermentasi yang menggunakan jenis substrat tepung kulit pisang kepok dan bakteri *Lactobacillus plantarum*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi substrat tepung kulit pisang kepok dan kecepatan pengadukan (agitasi) terhadap pertumbuhan biomassa dan produksi asam laktat pada proses fermentasi asam laktat.

METODOLOGI PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah kulit pisang kepok, kultur murni *Lactobacillus acidophilus*, MRS Broth, *Bacteriological Agar*, alkohol 70%, *cotton plug*, akuadestilasi, *aluminium foil* dan kertas saring. Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis adalah akuadestilasi, glukosa standar, pereaksi *Anthrone*, CaCO₃, kertas saring whatman No. 42, NaOH 0,1 N, dan indikator fenolftalein (PP).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *glassware*, rak tabung reaksi, *magnetic stirrer* (IKA C-MAG HS 7), statif, termometer, mikropipet (Scilogex), *cabinet dryer*, autoklaf (Allamerican), *shaker waterbath* (Wisebath), timbangan analitik, lemari asam (Mild steel), bunsen, ayakan 60 mesh, blender (Miyako), loyang, baskom, pisau, sendok, sedangkan alat yang digunakan untuk analisis adalah *glassware*, cawan aluminium, oven pengering (Memmert UN 55), desikator, timbangan analitik, termometer, mikropipet (Scilogex) dan tip, vortex (Lab dancer Ika™), statif, sentrifuse (Gemmy PLC-05), spektrofotometer UV-Vis (Spektroquant Prove 300), dan pH meter (Eutech USA type pH 5+).

B. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan rancangan percobaan faktorial dengan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor perlakuan, yaitu konsentrasi substrat tepung kulit pisang (3%, 5%, 7%)

dan kecepatan pengadukan atau agitasi (100 rpm, 150 rpm) yang terdiri dari 6 perlakuan dan 3 ulangan sehingga didapatkan 18 satuan percobaan.

C. Tahapan Penelitian

a. Penyiapan Kultur Bakteri *Lactobacillus acidophilus*

1. Peremajaan Bakteri

Lactobacillus acidophilus dari kultur persediaan utama diremajakan pada media MRS *Broth* yang ditambahkan dengan *Bacteriological Agar* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, kultur ini digunakan sebagai *stock culture* yang kemudian akan diremajakan pada media MRS *broth* (Silva *et al.*, 2005). MRS *broth* yang akan digunakan sebagai media peremajaan *Lactobacillus acidophilus* sebelumnya ditimbang kemudian ditambahkan dengan aquades. Campuran tersebut kemudian dipanaskan dan dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirer* dengan suhu 60°C selama 10 menit, mulut erlenmeyer ditutup dengan menggunakan *cotton plug* untuk kemudian dilakukan proses sterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit. Setelah dilakukan proses sterilisasi, media didinginkan. Proses peremajaan *Lactobacillus acidophilus* dilakukan dengan mengambil sebanyak 2 ose dari *stock culture* untuk kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi media yang telah disterilisasi dan kemudian disimpan di dalam inkubator selama 24 jam sampai cairan media berisi *Lactobacillus acidophilus* mengalami perubahan menjadi keruh (Febriningrum, 2013)

2. Pengujian TPC (*Total Plate Count*)

Pengujian ini dilakukan dengan melarutkan sebanyak 2,75 gram MRS *broth* dan 0,5 gram *Bacteriological Agar* dalam 50 ml aquades. Campuran tersebut kemudian dipanaskan dan dihomogenisasi menggunakan *magnetic stirer* dengan suhu 60°C selama 10 menit, mulut erlenmeyer ditutup dengan menggunakan *cotton plug* untuk kemudian dilakukan proses sterilisasi bersama NaCl fisiologis 0,9% menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Media berisi *Lactobacillus acidophilus* diambil menggunakan mikropipet sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,9% yang telah disterilisasi lalu divortex hingga homogen, cairan dalam tabung reaksi tersebut merupakan pengenceran tahap 1 atau dapat disebut pengenceran 10^{-1} . Cairan dari tabung reaksi pertama diambil sebanyak 1 ml, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi kedua yang berisi 9 ml NaCl fisiologis 0,9% yang telah disterilisasi lalu divortex hingga homogen, cairan dalam tabung reaksi tersebut merupakan pengenceran tahap 2 atau dapat disebut pengenceran 10^{-2} . Proses tersebut diulang hingga pengenceran tahap 7 atau disebut pengenceran 10^{-7} .

Pemupukan dilakukan duplo untuk 3 pengenceran terakhir, yaitu 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} masing-masing sebanyak 1 ml pada cawan petri yang sebelumnya telah disterilisasi dan berisi media MRS *broth* yang telah ditambah dengan *Bacteriological Agar*. Cawan tersebut kemudian dibungkus dengan menggunakan kertas coklat untuk kemudian dilakukan inkubasi dengan posisi terbalik menggunakan suhu 37°C selama 24 jam. Perhitungan jumlah koloni dilakukan setelah 24 jam.

b. Penyiapan Tepung Kulit Pisang

1. Pembuatan Tepung Kulit Pisang

Proses pembuatan tepung kulit pisang kepek diawali dengan memotong kulit pisang kepek menjadi ukuran yang lebih kecil kurang lebih 3 cm × 3 cm, sedangkan kedua ujung dari kulit pisang dibuang, kemudian kulit pisang kepek tersebut ditata dalam loyang. Kulit pisang kepek yang telah tertata rapi dalam loyang kemudian dikeringkan di dalam *cabinet dryer* (suhu 60-75°C, ±42 jam). Setelah dipastikan kulit pisang tersebut kering maka selanjutnya dilakukan proses penghalusan dengan menggunakan blender kering. Kulit pisang kepek yang telah halus kemudian dilakukan pengayakan dengan ayakan berukuran 60 mesh (Kusuma dan Zubaidah, 2016).

2. Hidrolisis Tepung Kulit Pisang

Proses hidrolisis tepung kulit pisang kepek dilakukan dengan menimbang tepung kulit pisang tersebut sesuai dengan masing-masing perlakuan yaitu 3 gram, 5 gram, dan 7 gram. Tepung kulit pisang yang telah ditimbang kemudian ditambah dengan menggunakan 100 ml aquades, kemudian dihomogenisasi dengan menggunakan *magnetic stirer* suhu 70°C dengan kecepatan 4 selama 15 menit. Larutan kemudian difiltrasi menggunakan kertas saring. Cairan hasil proses filtrasi kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit.

3. Pembuatan Media Fermentasi dengan Substrat Tepung Kulit Pisang

Proses pembuatan media fermentasi diawali dengan mensterilisasi filtrat tepung kulit pisang serta media MRS *broth* dan alat-alat lain yang digunakan dalam proses fermentasi. Filtrat tepung kulit pisang yang telah disterilisasi kemudian ditambahkan dengan media MRS *broth* dan kultur murni *Lactobacillus acidophilus* sebanyak 1 ml, lalu erlenmeyer disumbat dengan menggunakan *cotton plug* dan *aluminium foil*. Erlenmeyer berisi filtrat tepung kulit pisang, media MRS *broth*, dan kultur murni *Lactobacillus acidophilus* kemudian di fermentasi di dalam *shaker waterbath* (37°C, 24 jam) dan kecepatan pengadukan diatur sesuai dengan masing-masing perlakuan yaitu 100 rpm dan 150 rpm. Selama proses fermentasi berlangsung, setiap 12 jam sekali dilakukan *sampling*. Sampel yang telah diambil kemudian dilakukan proses analisis atau pengujian antara lain yaitu : analisis total asam laktat tertitrisasi, menguji biomassa sel dengan menghitung berat kering sampel setelah disentrifuse, total gula dan pH.

D. Analisis Statistik

Data hasil pengamatan dianalisis statistik menggunakan *Two Way Analysis of Varian* (ANOVA). Apabila dari hasil uji menunjukkan adanya pengaruh, maka dilakukan uji lanjut DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan selang kepercayaan 5%. Penentuan perlakuan terbaik dilakukan dengan metode Degarmo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Kecepatan Pengadukan terhadap pH

Pengukuran nilai pH dilakukan untuk mengetahui tingkat keasaman atau kebasaan media fermentasi berisi substrat kulit pisang kepok dengan menggunakan pH meter. Nilai pH dalam suatu larutan menunjukkan jumlah konsentrasi H⁺. Semakin tinggi nilai pH dalam suatu larutan tertentu, maka semakin sedikit ion H⁺ yang terkandung dalam larutan tersebut, sebaliknya semakin rendah nilai pH maka jumlah ion H⁺ akan semakin banyak (Febriningrum, 2013). Penurunan nilai pH terjadi mulai dari waktu fermentasi 12 jam hingga 24 jam. Penurunan pH tersebut menandakan bahwa proses fermentasi berjalan dengan baik. Nilai pH produk hasil fermentasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai pH Media Fermentasi Tepung Kulit Pisang Kepok

Konsentrasi Tepung Kulit Pisang Kepok	Kecepatan Pengadukan	
	P ₁ (100 rpm)	P ₂ (150 rpm)
K ₁ (3%)	4,91 ± 0,89 ^a	5,10 ± 0,76 ^a
K ₂ (5%)	4,88 ± 0,89 ^a	5,25 ± 0,67 ^a
K ₃ (7%)	4,90 ± 0,96 ^a	5,29 ± 0,72 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan dengan $\alpha = 5\%$. Data adalah rata-rata hasil tiga kali ulangan.

Berdasarkan Tabel 1, dapat dilihat bahwa media yang difermentasi pada kecepatan pengadukan 100 rpm memiliki nilai pH yang lebih rendah dan terjadi penurunan yang signifikan apabila dibandingkan media yang difermentasi pada kecepatan pengadukan 150 rpm. Hal ini menunjukkan bahwa kecepatan pengadukan 100 rpm lebih optimal untuk proses fermentasi oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus*. Konsentrasi substrat tepung kulit pisang tidak terlalu berpengaruh terhadap proses fermentasi oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang ditandai dengan tidak berbeda jauhnya nilai pH antar konsentrasi susbtrat. Perlakuan dengan konsentrasi substrat 5% dengan kecepatan pengadukan 100 rpm menghasilkan nilai pH yang paling rendah dibandingkan dengan perlakuan-perlakuan lainnya. Sedangkan berdasarkan hasil uji statistik ANOVA dari kedua perlakuan yaitu konsentrasi substrat tepung kulit pisang dan kecepatan pengadukan terhadap pH produk hasil fermentasi, didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata, atau dapat diartikan bahwa perlakuan konsentrasi substrat dan kecepatan pengadukan tidak mempengaruhi pH produk hasil fermentasi.

B. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Kecepatan Pengadukan terhadap Total Asam Laktat Tertitiasi (TAT)

Titirasi merupakan salah satu teknik analisis kuantitatif yang dipergunakan untuk menentukan konsentrasi suatu larutan tertentu, dimana proses penentuannya menggunakan suatu larutan standar yang diketahui konsentrasinya secara tepat. Peningkatan nilai TAT terjadi seiring dengan semakin lama waktu fermentasi berlangsung. Peningkatan nilai TAT ini berkisar antara 0,19% hingga 0,45%. Peningkatan nilai TAT pada saat proses fermentasi berlangsung dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Total Asam Laktat Tertitiasi (TAT) Media Fermentasi Tepung Kulit Pisang Kepok

Konsentrasi Tepung Kulit Pisang Kepok	Kecepatan Pengadukan	
	P ₁ (100 rpm)	P ₂ (150 rpm)
K ₁ (3%)	0,65 ± 0,24 ^a	0,61 ± 0,30 ^a
K ₂ (5%)	0,64 ± 0,25 ^a	0,49 ± 0,33 ^a
K ₃ (7%)	0,56 ± 0,22 ^a	0,46 ± 0,22 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan dengan $\alpha = 5\%$. Data adalah rata-rata hasil tiga kali ulangan.

Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai TAT yang menunjukkan peningkatan tertinggi dihasilkan pada perlakuan konsentrasi substrat 5% dengan kecepatan pengadukan 100 rpm, sedangkan rerata nilai TAT yang menunjukkan peningkatan terendah dihasilkan pada perlakuan konsentrasi substrat 7% dengan kecepatan pengadukan 150 rpm. Nilai TAT ditentukan oleh banyak ataupun sedikitnya gula yang dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* untuk difermentasi.

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* memanfaatkan gula sebagai sumber karbon untuk membentuk asam laktat dan energi, dalam hal ini glukosa diglikolisis menjadi asam piruvat yang kemudian akan diubah menjadi asam laktat dan energi. Perlakuan dengan konsentrasi substrat 5% dan kecepatan pengadukan 100 rpm menghasilkan nilai TAT tertinggi. Hal ini dikarenakan jumlah biomassa tertinggi dihasilkan pada perlakuan yang sama. Bakteri *Lactobacillus acidophilus* akan memanfaatkan gula untuk dimetabolisme menjadi asam - asam organik, salah satunya adalah asam laktat, dengan demikian semakin tinggi jumlah bakteri yang dapat memetabolisme gula yang terkandung dalam produk maka akan semakin tinggi pula asam-asam organik yang terdapat pada produk hasil fermentasi yang ditandai dengan tingginya nilai TAT (Kusuma dan Zubaidah, 2016).

Kecepatan pengadukan 150 rpm menghasilkan nilai TAT yang lebih rendah bila dibandingkan dengan nilai TAT yang dihasilkan pada kecepatan 100 rpm. Hal ini dapat disebabkan karena pada kecepatan pengadukan 150 rpm terjadi laju perpindahan yang terlampaui turbulen atau tidak beraturan sehingga menyebabkan kemampuan bakteri *Lactobacillus acidophilus* untuk memfermentasi produk dan menghasilkan asam laktat menjadi menurun ataupun terhambat (Febriningrum, 2013).

Tinggi rendahnya konsentrasi substrat juga dapat mempengaruhi hasil nilai TAT, dalam hal ini semakin tinggi substrat maka semakin banyak nutrisi yang dapat dimanfaatkan bakteri untuk tumbuh dan berkembang untuk menghasilkan asam laktat dan energi. Namun, berdasarkan hasil nilai TAT pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa, konsentrasi substrat yang menghasilkan nilai TAT tertinggi adalah konsentrasi substrat 3% dan 5%, sedangkan konsentrasi substrat 7% menghasilkan nilai TAT terendah. Hal ini dapat disebabkan karena pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* terhambat. Konsentrasi substrat yang tinggi akan menyebabkan dehidrasi sel bakteri sehingga menghambat pertumbuhannya. Apabila pertumbuhan bakteri terhambat, maka total asam yang dihasilkan selama proses fermentasi rendah (Judoamidjojo, 1990).

Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA dari kedua perlakuan yaitu konsentrasi substrat tepung kulit pisang dan kecepatan pengadukan terhadap total asam laktat tertitiasi produk hasil fermentasi, didapatkan hasil tidak berbeda nyata, atau dapat diartikan bahwa perlakuan konsentrasi substrat dan kecepatan pengadukan tidak mempengaruhi total asam laktat tertitiasi produk hasil fermentasi.

C. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Kecepatan Pengadukan terhadap Biomassa Sel

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan memetabolisme suatu produk pada suatu lingkungan tertentu ditentukan oleh susunan genetik mikroorganisme tersebut serta pemilihan jenis strain bakteri ataupun kondisi operasi saat proses fermentasi dilakukan, seperti kecepatan pengadukan

atau agitasi, konsentrasi substrat yang digunakan, temperatur, dan pH. Pertumbuhan sel bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan beberapa konsentrasi substrat dan kecepatan pengadukan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Jumlah Biomassa Sel Media Fermentasi Tepung Kulit Pisang Kepok

Konsentrasi Tepung Kulit Pisang Kepok	Kecepatan Pengadukan	
	P ₁ (100 rpm)	P ₂ (150 rpm)
K ₁ (3%)	1,88 ± 0,70 ^a	1,38 ± 0,49 ^a
K ₂ (5%)	2,94 ± 1,17 ^b	2,08 ± 1,25 ^{ab}
K ₃ (7%)	2,80 ± 0,77 ^b	1,00 ± 0,45 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan dengan $\alpha = 5\%$. Data adalah rata-rata hasil tiga kali ulangan.

Berdasarkan Tabel 3 didapatkan hasil bahwa adanya perbedaan yang signifikan pada perlakuan konsentrasi substrat 3% dengan kecepatan pengadukan 100 rpm, konsentrasi substrat 3% dengan kecepatan pengadukan 150 rpm, dan konsentrasi substrat 7% dengan kecepatan pengadukan 150 rpm terhadap perlakuan konsentrasi substrat 5% dengan kecepatan pengadukan 100 rpm dan perlakuan konsentrasi substrat 7% dengan kecepatan pengadukan 100 rpm. Hal ini dapat disebabkan karena konsentrasi substrat yang berbeda dan juga kecepatan pengadukan yang dapat mempengaruhi laju perpindahan massa substrat. Rendahnya konsentrasi substrat menyebabkan semakin rendah nutrisi yang didapatkan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus*, sehingga hal ini menyebabkan pertumbuhan biomassa menjadi rendah, selain itu kecepatan pengadukan yang terlampaui tinggi juga dapat menyebabkan adanya gerakan turbulen yang dapat menurunkan kemampuan bakteri *Lactobacillus acidophilus* untuk memanfaatkan substrat sehingga jumlah biomassa yang dihasilkan pun cenderung rendah (Febriningrum, 2013).

D. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Kecepatan Pengadukan terhadap Total Gula

Kadar glukosa yang terkandung dalam media hasil fermentasi berhubungan erat dengan jumlah bakteri yang terdapat dalam media fermentasi. Glukosa yang terkandung pada media fermentasi akan diubah menjadi asam laktat oleh bakteri. Seiring dengan berjalannya waktu fermentasi, konsumsi glukosa oleh bakteri meningkat, sehingga glukosa yang ada pada media fermentasi akan semakin berkurang (Ferdaus *et al.*, 2008). Nilai total gula yang dihasilkan oleh media fermentasi tepung kulit pisang berkisar antara 0,006% hingga 0,073%. Nilai total gula produk hasil fermentasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai Total Gula Media Fermentasi Tepung Kulit Pisang Kepok

Konsentrasi Tepung Kulit Pisang Kepok	Kecepatan Pengadukan	
	P ₁ (100 rpm)	P ₂ (150 rpm)
K ₁ (3%)	0,01 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a
K ₂ (5%)	0,02 ± 0,01 ^a	0,05 ± 0,01 ^a
K ₃ (7%)	0,02 ± 0,01 ^a	0,06 ± 0,01 ^a

Keterangan: angka yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji duncan dengan $\alpha = 5\%$. Data adalah rata-rata hasil tiga kali ulangan.

Semakin lama proses fermentasi maka semakin banyak penurunan nilai total gula pada media fermentasi tepung kulit pisang. Penurunan nilai total gula media fermentasi setelah proses fermentasi berkisar antara 0,011% hingga 0,026%. Penurunan nilai total gula berbanding lurus dengan peningkatan jumlah biomassa setelah adanya proses fermentasi. Semakin banyak jumlah biomassa yang tumbuh maka semakin banyak gula yang dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* dan dipecah menjadi asam laktat dan energi. Sukrosa akan dipecah terlebih dahulu menjadi fruktosa dan glukosa, kemudian glukosa akan dimanfaatkan oleh bakteri *Lactobacillus acidophilus* sebagai sumber energi dan sebagian akan dimetabolisme menjadi asam-asam organik terutama asam laktat (Kusuma dan Zubaidah, 2016).

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa media fermentasi yang difermentasi pada kecepatan pengadukan 150 rpm memiliki nilai total gula yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan media

fermentasi yang difermentasi pada kecepatan pengadukan 100 rpm. Hal ini dapat disebabkan karena pada kecepatan 150 rpm terjadi profil aliran yang sangat turbulen sehingga hal ini dapat mengganggu aktivitas bakteri *Lactobacillus acidophilus* ketika mengkonsumsi glukosa dan mengakibatkan konsentrasi glukosa pada akhir fermentasi masih cukup tinggi. Sedangkan berdasarkan hasil uji statistik ANOVA dari kedua perlakuan yaitu konsentrasi substrat tepung kulit pisang dan kecepatan pengadukan terhadap total gula produk hasil fermentasi, didapatkan hasil tidak berbeda nyata, atau dapat diartikan bahwa perlakuan konsentrasi substrat dan kecepatan pengadukan tidak mempengaruhi total gula produk hasil fermentasi.

E. Perlakuan Terbaik

Penentuan perlakuan terbaik dilakukan dengan menggunakan metode *De Garmo* atau dapat disebut sebagai uji indeks efektifitas (Degarmo *et al.*, 1994). Metode ini dilakukan dengan prinsip menentukan perlakuan terbaik berdasarkan nilai hasil (Np) keseluruhan variabel pengamatan tertinggi. Penentuan perlakuan terbaik diketahui berdasarkan nilai hasil (Np) tertinggi, nilai hasil (Np) dapat dihitung dengan mengkalikan nilai efektifitas (Ne) dengan bobot normal tiap variabel atau parameter (BN). Perhitungan diawali dengan pemberian bobot atau yang disebut sebagai bobot variabel (BV) pada tiap variabel pengamatan (parameter), pemberian bobot ini didasarkan pada pentingnya pengaruh parameter tersebut terhadap hasil penelitian, sedangkan skala yang digunakan untuk memberikan bobot berkisar antara 0-1. Bobot variabel kemudian dijumlahkan untuk mengetahui bobot total, lalu dilakukan pembagian antara bobot variabel pada tiap parameter dengan bobot total dan dihasilkan bobot normal (BN), kemudian dilakukan penentuan nilai terbaik dan nilai terburuk pada tiap variabel (parameter) untuk menghitung nilai efektifitas (Ne). Data hasil perhitungan bobot variabel (BV) dan nilai efektifitas (Ne) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Penentuan Perlakuan Terbaik menggunakan Metode Degarmo (Indeks Efektifitas)

Perlakuan	Nilai BV			TOTAL
	pH	TAT	Biomassa	
A1B1 (0 JAM)				0,41
A1B2 (0 JAM)				0,54
A2B1 (0 JAM)				0,40
A2B2 (0 JAM)				0,20
A3B1 (0 JAM)				0,24
A3B2 (0 JAM)				0,17
A1B1 (12 JAM)				0,79
A1B2 (12 JAM)				0,46
A2B1 (12 JAM)	0,7	0,9	1	0,89
A2B2 (12 JAM)				0,20
A3B1 (12 JAM)				0,96
A3B2 (12 JAM)				0
A1B1 (24 JAM)				0,62
A1B2 (24 JAM)				0,19
A2B1 (24 JAM)				0,95*
A2B2 (24 JAM)				0,26
A3B1 (24 JAM)				0,67
A3B2 (24 JAM)				0
BN	0,205	0,264	0,294	0,235

Keterangan : tanda (*) menunjukkan nilai hasil (Np) tertinggi

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui bahwa berdasarkan perhitungan didapatkan nilai hasil (Np) tertinggi pada perlakuan dengan konsentrasi substrat 5% dan kecepatan pengadukan (agitasi) 100 rpm, dengan demikian perlakuan tersebut dinyatakan sebagai perlakuan terbaik pada penelitian ini.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan hasil bahwa konsentrasi substrat tepung kulit pisang kepok dan kecepatan pengadukan (agitasi) berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan biomassa sel bakteri *Lactobacillus acidophilus*, namun tidak berpengaruh nyata terhadap nilai total asam laktat tertitrasi (TAT), nilai pH dan nilai total gula, dengan jumlah biomassa sel terbaik yaitu 3,07 g/l dan total asam laktat tertitrasi 1,05%. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, maka kulit pisang kepok berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai alternatif media fermentasi yang murah dan efisien, dimana dapat menghasilkan biomassa dan asam laktat yang cukup tinggi.

UCAPAN TERIMAKASIH

Dalam penelitian dan penyusunan artikel ilmiah ini, saya memperoleh bantuan dari berbagai pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Untuk itu, saya ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada pihak-pihak yang telah membantu terlaksananya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bo, J. P. Y., Yibong, M. dan Ling, Z. O. 2005. Production of Lactic Acid and Fungal Biomassa by Rhizopus Fungi from Food Processing Waste Streams, *Jurnal Ind. Microbiol. Biotechnol* 32 : 678-686, *Enviromental Biotechnology*. Australia.
- Degarmo, E. P., Sullivian, W. G. dan Ganada, J. R. 1994. *Engineering Economy The 7th Edition*. Mac Millan Publishing Co, Inc. New York.
- Febriningrum, P. N. 2013. Pengaruh Konsentrasi Substrat Kulit Nanas dan Kecepatan Pengadukan terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* untuk Produksi Asam Laktat. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan* Vol. 9 No. 3 Hlm. 144 - 151.
- Ferdaus, F., Wijayanti, M.O., Retnoningtyas, E. S. dan Irawati, W. 2008. Pengaruh Ph, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat dan Waktu Fermentasi terhadap Perolehan Asam Laktat dari Kulit Pisang. *Jurnal Widya Teknik* Vol. 7, No. 1, 2008 (1-14).
- Kusuma, V. J. M. dan Zubaidah, E. 2016. Evaluasi Pertumbuhan *Lactobacillus Casei* dan *Lactobacillus Plantarum* dalam Medium Fermentasi Tepung Kulit Pisang. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* Vol. 4 No 1 p.100-108.
- Judoamidjojo, R. M. 1990. *Biokonversi*. Dikti Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Bogor.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A. dan Orlando, P. 2009. Fermentative Ability of Alginate-prebiotic Encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and Survival Under Simulated Gastrointestinal Conditions. *J. Funct. Foods*. 1:319-323.
- Setiawati, D. R., Anastasia R. S. dan Tri K. D. 2013. Proses Pembuatan Bioetanol dari Kulit Pisang Kepok. *Jurnal Teknik Kimia* No. I, Vol. 19.
- Silva, J., Carvalho, A. S., Ferreiraz, R., Vitorino, R., Amado, F., Dominguess, P., Teixeira, P. dan Gibbs, P. A. 2005. Effect of the pH of Growth on the Survival of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* to Stress Conditions during spray-drying, *Journal of Applied Microbiology*, 98, 775-782.