

**PENGARUH JENIS BAKTERI ASAM LAKTAT DAN KONSENTRASI
INOKULUM TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT DARI AIR
KELAPA**

SKRIPSI

Oleh:
ANGGRAINI PUJASARI
NIM. 14630058



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019**

**PENGARUH JENIS BAKTERI ASAM LAKTAT DAN KONSENTRASI
INOKULUM TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT DARI AIR
KELAPA**

SKRIPSI

Oleh:
ANGGRAINI PUJASARI
NIM. 14630058

Diajukan Kepada:
• Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2019

**PENGARUH JENIS BAKTERI ASAM LAKTAT DAN KONSENTRASI
INOKULUM TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT DARI AIR
KELAPA**

SKRIPSI

Oleh:
ANGGRAINI PUJASARI
NIM. 14630058

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 08 Mei 2019

Pembimbing I

Anik Maunatin, S.T., M.P
NIDT. 197601052018012 2 248

Pembimbing II

Ahmad Abtokhi, M. Pd
NIP. 19710311 200312 1 002

Mengetahui,
Jurusan Kimia



Dekan, Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**PENGARUH JENIS BAKTERI ASAM LAKTAT DAN KONSENTRASI
INOKULUM TERHADAP PRODUKSI ASAM LAKTAT DARI AIR
KELAPA**

SKRIPSI

Oleh:
ANGGRAINI PUJASARI
NIM. 14630058

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 08 Mei 2019

Penguji Utama	: Elok Kamilah Hayati, M.Si NIP. 19790620 200604 2 002	(.....)
Ketua Penguji	: Dewi Yuliani, M.Si NIDT. 19880711 20160801 2 067	(.....)
Sekretaris Penguji	: Anik Maunatin, S.T., M.P NIDT. 197601052018012 2 248	(.....)
Anggota Penguji	: Ahmad Abtokhi, M.Pd NIP. 19710311 200312 1 002	(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia



Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Anggraini Pujasari
NIM : 14630058
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : Pengaruh Jenis Bakteri Asam Laktat dan Konsentrasi Inokulum Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan maka saya bersedia menerima sanksi perbuatan tersebut.

Malang, 22 Mei 2019

Yang membuat pernyataan



Anggraini Pujasari
NIM. 14630058

HALAMAN PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT akhirnya bisa menyelesaikan tugas akhir ini. Tanpa kehendak-Nya dan dukungan dari orang-orang sekitar, saya tidak dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Oleh karena itu, saya ingin mempersembahkan tulisan ini untuk:

Kedua orang tua saya, Bapak Suhadak dan Ibu Robanah, kakak saya Mas Reza serta seluruh keluarga besar yang selama ini telah memberikan segala bentuk dukungan mulai dari awal masuk kuliah hingga saya bisa memperoleh gelar sarjana ini. Terima kasih untuk segalanya, mungkin kiranya tulisan ini hanya sebagian kecil hal yang bisa saya persembahkan, karena semua kebaikan kalian takkan bisa terbalas dengan apapun. Semoga selalu diberi kesehatan, kebahagiaan dan panjang umur, Aamiin..

Bapak dan Ibu Dosen, khususnya Ibu Anik Maunatin, S.T., M.P, Ibu Dewi Yuliani, M.Si, Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, dan Bapak Ahmad Abtokhi, M.Pd yang telah memotivasi, memberikan arahan, dan membimbing dengan sangat sabar selama ini. Dari proses pembelajaran selama S-1 ini saya bisa lebih mengerti dan memahami ilmu kimia dengan baik. Semoga kebaikan Bapak dan Ibu Dosen mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT, Aamiin..

Seluruh teman-teman kimia khususnya Fathia dan Mbak Maya yang menjadi teman seperjuangan selama penelitian. Untuk mbak citra, dian, difah, izza, vina, lina, una, ani, dina, diah, mbak yani, mala dan semua teman-teman Kimia-C 2014 yang lain terima kasih untuk segala bantuan supportnya selama ini. Semoga Allah memberikan keberkahan atas semua kerja keras yang kita lakukan. Semoga cita-cita kita semua bisa terwujud dan menjadi orang-orang yang berhasil, Aamiin..

KATA PENGANTAR

Puji syukur bagi Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, atas segala nikmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan SKRIPSI yang berjudul **“Pengaruh Jenis Bakteri Asam Laktat dan Konsentrasi Inokulum Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa”** dengan sebaik mungkin. Sholawat serta salam selalu penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW. sosok teladan dalam membangun peradaban dan budaya pemikiran. Iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Orang tua penulis, Bapak Suhadak dan Ibu Robanah, serta kakak saya Mas Reza yang telah banyak memberikan perhatian, nasihat, do'a dan dukungan baik moril maupun materiil kepada penulis yang tak mungkin terbalaskan.
2. Bapak Prof. Dr. H. Abd. Haris, M.Ag., selaku rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si selaku dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Anik Maunatin, S.T., M.P, Ibu Dewi Yuliani, M.Si, Bapak Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku dosen pembimbing dan konsultan dalam penulisan skripsi ini.
6. Seluruh dosen, laboran dan staff administrasi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan ilmu, pengetahuan, pengalaman, dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.

7. Teman-teman Jurusan Kimia angkatan 2013-2015 serta semua mahasiswa Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan motivasi dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan secara satu persatu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materiil.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan dapat menambah ilmu pengetahuan baru bagi para pembaca.

Malang, 22 Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
الملخص	xv
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Manfaat Tumbuhan dalam Perspektif Islam	6
2.2 Air Kelapa	8
2.3 Asam Laktat	9
2.4 Fermentasi Asam Laktat.....	10
2.5 Konsentrasi Inokulum	12
2.6 <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	13
2.7 <i>Streptococcus</i> sp.	14
2.8 Pengukuran Kadar Total Gula Metode Sulfat Fenol	15
2.9 Pengukuran Total Asam Laktat Metode Titrimetri	16
 BAB III METODOLOGI	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.2.1 Alat	17
3.2.2 Bahan.....	17
3.3 Rancangan Penelitian	18
3.4 Tahapan Penelitian	18
3.5 Pelaksanaan Penelitian	19
3.5.1 Penentuan Kadar Total Gula dengan Metode Fenol H ₂ SO ₄	19
3.5.1.1 Pembuatan Kurva Standar	19
3.5.1.2 Penentuan Total Gula Sampel	19

3.5.2 Pembuatan Media MRSA dan MRSB	20
3.5.3 Regenerasi Bakteri Asam Laktat	20
3.5.4 Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat	20
3.5.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat	21
3.5.6 Pengaruh Konsentrasi inokulum dan Jenis Bakteri Asam Laktat Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa	21
3.5.7 Analisis Kadar Asam Laktat dengan Metode Titrimetri	22
3.5.8 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat	22
3.5.9 Penentuan <i>yield</i>	23
3.5.10 Analisis Data	23

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel	24
4.2 Pembuatan Inokulum	25
4.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dalam Air Kelapa	27
4.4 Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Jenis Bakteri Asam Laktat Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa	28
4.5 Efisiensi Proses Fermentasi	30
4.6 Viabilitas Bakteri Asam Laktat dalam Media Air Kelapa	32
4.7 Tinjauan Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam	33

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35

DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan gizi air kelapa.....	9
Tabel 2.2 Karakteristik asam laktat.....	10
Tabel 3.1 Kombinasi jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum.....	18
Tabel 4.1 Rata-rata kadar gula air kelapa.....	25
Tabel 4.2 Rata-rata nilai pH dan kadar asam laktat	29
Tabel 4.3 Rata-rata kadar gula yang dikonsumsi dan <i>yield</i> asam laktat	31
Tabel 4.4 Rata-rata jumlah koloni bakteri.....	32
Tabel L4.1 Data absorbansi glukosa	51
Tabel L4.2 Hasil analisis kadar gula bahan baku mentah.....	52
Tabel L4.3 Hasil Analisis kadar gula bahan baku sebelum fermentasi	53
Tabel L4.4 Absorbansi kadar gula setelah fermentasi	53
Tabel L4.5 Total kadar gula setelah fermentasi	54
Tabel L4.6 Kadar gula terpakai pada proses fermentasi	55
Tabel L5.1 Absorbansi kurva pertumbuhan <i>Leuconostoc mesenteroides</i> dan <i>Streptococcus</i> sp pada media air kelapa.....	56
Tabel L5.2 Absorbansi kurva pertumbuhan <i>Leuconostoc mesenteroides</i> dan <i>Streptococcus</i> sp pada media MRSB	57
Tabel L5.3 Hasil analisa kurva pertumbuhan <i>Leuconostoc mesenteroides</i> dalam media air kelapa	57
Tabel L5.4 Hasil analisa kurva pertumbuhan <i>Streptococcus</i> sp. dalam media air kelapa	58
Tabel L6.1 pH setelah fermentasi	59
Tabel L6.2 Data hasil titrasi	60
Tabel L6.3 Kadar asam laktat	60
Tabel L7.1 Hasil perhitungan jumlah bakteri	61
Tabel L8.1 <i>Yield</i> asam laktat.....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Jalur metabolisme bakteri asam laktat	12
Gambar 2.2 <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	14
Gambar 2.3 <i>Streptococcus</i> sp.....	14
Gambar 2.4 Reaksi dehidrasi karbohidrat.....	15
Gambar 2.5 Beberapa macam senyawa turunan furan.....	15
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan <i>Leuconostoc mesenteroides</i> dan <i>Streptococcus</i> sp. dalam media MRSB	26
Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan <i>Leuconostoc mesenteroides</i> dan <i>Streptococcus</i> sp. dalam media air kelapa.....	27



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	41
Lampiran 2 Diagram Alir.....	42
Lampiran 3 Pembuatan Larutan	48
Lampiran 4 Analisis Kadar Gula Metode Sulfat Fenol.....	51
Lampiran 5 Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Leuconostoc mesenteroides</i> dan <i>Streptococcus</i> sp.	56
Lampiran 6 Analisis pH dan Kadar Asam Laktat	59
Lampiran 7 Perhitungan Jumlah Bakteri.....	61
Lampiran 8 Perhitungan <i>Yield</i> Asam Laktat	62
Lampiran 9. Hasil Analisis Uji Statistik	63



ABSTRAK

Pujasari, A. 2019. **Pengaruh Jenis Bakteri Asam Laktat dan Konsentrasi Inokulum Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing : Anik Maunatin, S.T., M.P, Dewi Yuliani, M.Si, dan Ahmad Abtokhi, M.Pd.

Asam laktat merupakan asam hidroksikarboksilat yang memiliki banyak manfaat dalam berbagai bidang seperti industri makanan, obat-obatan dan kosmetik. Asam laktat dapat diproduksi secara sintesis dan fermentasi. Namun, sebagian besar diproduksi secara fermentasi karena menghasilkan asam laktat dengan kemurnian yang lebih tinggi. Air kelapa merupakan media yang cocok untuk produksi asam laktat secara fermentasi karena air kelapa mengandung gula serta nutrisi lain yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri asam laktat. Selain itu, air kelapa dapat diperoleh dengan mudah dan harganya murah. Tujuan pada penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum terhadap produksi asam laktat dari fermentasi air kelapa.

Penelitian ini bersifat kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) yang terdiri dari dua faktor yaitu, jenis bakteri (*Streptococcus* sp. dan *Leuconostoc mesenteroides*) dan variasi konsentrasi inokulum (5, 10 dan 15%). Penentuan kadar asam laktat dilakukan dengan metode titrasi dan penentuan kadar gula total menggunakan metode sulfat fenol. Data yang diperoleh dianalisis dengan *Two Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) jika terdapat pengaruh signifikan.

Kadar asam laktat terbesar yaitu 0,822% dihasilkan oleh *Streptococcus* sp. dengan konsentrasi inokulum 15% dan konsumsi gula sebesar 2,02%. *Yield* tertinggi yaitu 43,63% ditunjukkan pada fermentasi oleh *Leuconostoc mesenteroides* dengan konsentrasi inokulum 15%. Hasil uji statistik menunjukkan baik jenis bakteri, konsentrasi inokulum maupun interaksi antara jenis bakteri dan konsentrasi inokulum tidak memberikan pengaruh signifikan ($\text{sig} > 0,05$) terhadap kadar asam laktat.

Kata Kunci : asam laktat, air kelapa, *Streptococcus* sp. *Leuconostoc mesenteroides*, konsentrasi inokulum

ABSTRACT

Pujasari, A. 2019. **Effect of Lactic Acid Bacteria Type and Inoculum Concentration on Lactic Acid Production from Coconut Water**. Chemistry Department, Science and Technology Faculty UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Advisor I: Anik Maunatin, S.T., M.P, Dewi Yuliani, M. Si. and Ahmad Abtokhi, M.Pd.

Lactic acid is a member of hydroxycarboxylic acids serving many purposes in various fields including food, medicine and cosmetic industries. Lactic acid is commonly produced through synthesis and fermentation. However, fermentation is often favored over synthesis because the produced lactic acid is of higher purity. Coconut water has been deemed a suitable medium for the production of lactic acid by fermentation due to its sugar and other nutritional content that can support the growth of lactic acid bacteria. In addition, coconut water is ubiquitously available and of low-cost. The objective of this study was to determine the effect of the type of lactic acid bacteria and inoculum concentration on lactic acid production from coconut water fermentation.

This research is classified as quantitative using Factorial Randomized Group Design (RAKF) comprising two factors, the type of bacteria (*Streptococcus* sp. and *Leuconostoc mesenteroides*) and variations in inoculum concentration (5, 10 and 15%). Determination of lactic acid content was carried out by titration, whereas total sugar content was determined using sulfate phenol method. The data obtained were analyzed using Two Way ANOVA, followed by Honestly Significant Difference test (HSD) if there were significant influences.

The highest lactic acid content of 0.822% was produced by *Streptococcus* sp. with 15% inoculum concentration and sugar consumption of 2.02%. The highest yield obtained is 43.63%, achieved through fermentation by *Leuconostoc mesenteroides* with 15% inoculum concentration. Statistical test results showed that type of bacteria, inoculum concentration and interaction between the type of bacteria and the inoculum concentration does not have a significant effect ($\text{sig} > 0.05$) on lactic acid content produced.

Keywords: lactic acid, coconut water, *Streptococcus* sp. *Leuconostoc mesenteroides*, inoculum concentration

ملخص البحث

فوجاساري. أ. ٢٠١٩. تأثير نوع بكتيريا للحمض اللبنيك وتركيز اللقاح على إنتاج حمض اللبنيك من ماء النارجيل. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا مولانا مالك إبراهيمممالانج. المشرف: أنيك مؤونة ، الماجستير، الماجستير ، ديوي يولياني، الماجستير، وأحمد أبطخي، الماجستير

حمض اللبنيك هو حمض الهيدروكسي كربوكسيل الذي له فوائد في مجالات مختلفة مثل الصناعات الغذائية والطبية ومستحضرات التجميل. يصنع حمض اللبنيك عن طريق التخليق والتخمير. ومع ذلك، صنع معظمه عن طريق التخمير لأنه ينتج حمض اللبنيك النقاء الأعلى. ماء النارجيل هو وسيلة مناسبة لإنتاج حمض اللبنيك عن طريق التخمير لأن ماء النارجيل يحتوي على السكر والمواد المغذية الأخرى التي تمكن أن تدعم نمو بكتيريا حمض اللبنيك. بالإضافة إلى ذلك، ماء النارجيل يحصل بسهولة وبتكلفة زهيدة. الاهداف البحث هو تحديد تأثير نوع بكتيريا حمض اللبنيك وتركيز اللقاح على إنتاج حمض اللبنيك من تخمير ماء النارجيل هذا البحث هو كمي باستخدام مجموعة التصميم العشوائية الكاملة العملية (RAKF) الذي يتكون من عاملين، هما نوع البكتيريا (*Streptococcus sp.* و *Leuconostoc mesenteroides*) واختلافات تركيز اللقاح (٥ و ١٠ و ١٥ ٪). تحديد مستويات حمض اللبنيك بطريقة المعايرة وتحديد محتوى السكر الكلي باستخدام طريقة سلفاتينول. تحليل البيانات التي تم الحصول عليها بواسطة توي واي أنوفا (Two Way ANOVA) واستمرت في اختبار الفرق الحقيقي الصادق (BNJ) إذا كانت هناك تأثيرات كبيرة. أكبر مستوى الحمض اللبنيك هو ٠.٨٢٢ ٪ التي حصلت *Streptococcus sp.* مع ١٥ ٪ تركيز اللقاح واستهلاك السكر هو ٢.٠٢ ٪. كانت أعلى غلة (Yield) ٤٣.٦٣ ٪ ، التي تشير إليها بالتخمير بواسطة *Leuconostoc mesenteroides* مع تركيز اللقاح ١٥ ٪. دلت نتائج الاختبارات الإحصائية أن كلا من نوع البكتيريا وتركيز اللقاح والتفاعل بين نوع البكتيريا وتركيز اللقاح لم يعطي تأثير كبير (سيج أكبر من ٠.٠٥) على مستوى حمض اللبنيك.

الكلمات الرئيسية: حمض اللبنيك، ماء النارجيل، *Streptococcus sp.*، *Leuconostoc mesenteroides*، تركيز اللقاح

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam laktat merupakan asam hidroksikarboksilat yang paling banyak terdapat di alam. Asam laktat berada dalam bentuk dua isomer optik yaitu, D(-) dan L(+) atau campuran dari kedua isomer optik tersebut membentuk rasemik DL-asam laktat. DL-asam laktat bersifat amorf dan tidak aktif secara optik sehingga tidak banyak diproduksi, sedangkan D(-) dan L(+) memiliki kemurnian yang tinggi dan aktif secara optik sehingga memiliki banyak manfaat (Sobrun, dkk., 2012). Beberapa manfaat asam laktat adalah dapat digunakan sebagai pengasam, pengawet makanan, obat-obatan dan kosmetik (Taleghani, dkk., 2014). Selain itu, asam laktat merupakan bahan baku dari *Polylactic Acid* (PLA) yang bersifat *biodegradable* yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan plastik yang ramah lingkungan. PLA diperoleh dari polimerisasi asam laktat dengan kemurnian optik yang tinggi. Oleh karena itu, asam laktat dalam bentuk murni yaitu L(+) atau D(-)-asam laktat cocok digunakan sebagai bahan baku pembuatan PLA dibandingkan dengan asam laktat dalam bentuk rasemik DL-asam laktat (Msyuya, dkk., 2017).

Asam laktat dapat diperoleh dengan cara sintesis kimia dan fermentasi. Produksi dengan cara sintesis kimia menggunakan sumber minyak bumi akan menghasilkan asam laktat dalam bentuk rasemik (Srivastava, 2014). Produksi asam laktat dengan fermentasi akan menghasilkan D(-) atau L(+)-asam laktat tergantung pada spesies bakteri yang digunakan. Selain itu, keuntungan produksi asam laktat dengan fermentasi adalah suhu produksi yang rendah, harga bahan

baku yang rendah dan dapat diperoleh dari berbagai sumber karbon (Buyondo dan Shijie, 2011).

Salah satu bahan baku yang dapat dijadikan sebagai media fermentasi adalah air kelapa. Air kelapa mengandung nutrisi yang lengkap sehingga baik untuk menunjang pertumbuhan bakteri penghasil produk pangan. Salah satu komponen nutrisi yang penting dalam air kelapa adalah gula. Air kelapa mengandung gula sederhana yang dapat menjadi sumber karbon bagi mikroorganisme (Pranayanti dan Aji, 2015). Konsentrasi kandungan gula dalam air kelapa yaitu glukosa 0,5%, fruktosa 0,61% dan sukrosa 0,67% (Seesuriyachan, dkk., 2011). Penggunaan air kelapa sebagai substrat juga mampu mengoptimalkan manfaat air kelapa yang merupakan produk samping dari buah kelapa dan produksinya di Indonesia mencapai 3,75 ton/tahun (Pranayanti dan Aji, 2015).

Keberhasilan pada proses fermentasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya yaitu konsentrasi inokulum (Iswanto, 2018). Konsentrasi inokulum akan berpengaruh pada proses fermentasi karena jumlah mikroba dapat mempengaruhi cepat lambatnya waktu fermentasi dan juga jumlah produk hasil fermentasi. Suharyono dan Muhamad (2010) telah melakukan pengukuran kadar asam laktat pada minuman laktat dari bengkuang yang difermentasi dengan variasi konsentrasi inokulum *Streptococcus thermophilus* sebesar 5, 10 dan 15%. Kadar asam laktat tertinggi yaitu 21 g/L diperoleh pada perlakuan konsentrasi inokulum 15%. Penelitian lain juga dilakukan oleh Wardani, dkk (2017), dengan menggunakan substrat susu dan variasi konsentrasi inokulum *Lactobacillus plantarum* Dad 13 sebesar 1, 3, 5 dan 10%, diperoleh kadar asam laktat tertinggi pada konsentrasi inokulum 10%. Franca, dkk (2009) juga telah melakukan produksi asam laktat dari molase menggunakan konsentrasi inokulum

Lactobacillus delbrueckii 6949 sebesar 2,5-15%, kadar asam laktat tertinggi yaitu 101 g/L diperoleh pada konsentrasi inokulum 5%. Hasil dari penelitian-penelitian tersebut menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi inokulum, produk yang dihasilkan tidak selalu semakin besar. Bakteri asam laktat memiliki konsentrasi inokulum optimum untuk menghasilkan kadar asam laktat yang tinggi, sehingga perlu dilakukan variasi konsentrasi inokulum.

Selain konsentrasi inokulum, jenis bakteri asam laktat juga dapat mempengaruhi hasil fermentasi. Setiap bakteri asam laktat akan menghasilkan kadar asam laktat yang berbeda. Vidra, dkk (2017) menggunakan *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus* sp. MKT878 untuk produksi asam laktat dari molase. Kadar asam laktat tertinggi yaitu 83 g/L dihasilkan oleh *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus* sp. MKT878 menghasilkan asam laktat 68 g/L. Setiarto, dkk (2017) menggunakan tiga bakteri asam laktat (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*) sebagai starter pembuatan yoghurt dan diukur kadar asam laktatnya. *Lactobacillus acidophilus* menghasilkan kadar asam yang lebih besar dibandingkan *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*.

Asam laktat memiliki begitu banyak manfaat, salah satunya sebagai pengawet makanan. Hampir seluruh industri makanan kemasan menggunakan pengawet untuk menekan kerugian jika produknya tidak habis dalam beberapa hari. Beberapa bahan pengawet sintetis dapat berbahaya bagi kesehatan tubuh, sehingga adanya bahan pengawet alami seperti asam laktat dapat digunakan sebagai alternatif pengganti bahan pengawet berbahaya. Allah SWT juga telah memerintahkan untuk memakan makanan yang tidak hanya halal tapi juga baik

untuk kesehatan. Perintah tersebut ditegaskan oleh Allah SWT dalam Q.S. An Nahl ayat 114 yang berbunyi :

فَكُلُوا مِمَّا رَزَقَكُمُ اللَّهُ حَلَالًا طَيِّبًا وَاشْكُرُوا نِعْمَتَ اللَّهِ إِنَّ كُنتُمْ لِعِيَاهُ تَعْبُدُونَ



“Maka makanlah yang halal lagi baik dari rezki yang telah diberikan Allah kepadamu; dan syukurilah nikmat Allah, jika kamu hanya kepada-Nya saja menyembah” (Q.S. An Nahl : 114).

Dalam tafsir Fi Zhilalil-Qur’an dijelaskan bahwa Allah SWT memerintahkan memakan makan yang baik dan mensyukuri segala nikmat-Nya. Manusia seharusnya tetap istiqamah dengan keimanan yang benar kepada Allah SWT, ikhlas beribadah kepada-Nya dan jauh dari kesyirikan yang telah diperintahkan kepada mereka dengan diharamkannya beberapa hal.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum pada produksi asam laktat dari air kelapa ?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum pada produksi asam laktat dari air kelapa.

1.4 Batasan Masalah

1. Bakteri asam laktat yang digunakan adalah *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp.
2. Variasi konsentrasi inokulum yang digunakan adalah 5, 10 dan 15%.
3. Substrat yang digunakan adalah air kelapa yang dibeli dari pasar Belimbing.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah kepada masyarakat tentang pengaruh jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum pada produksi asam laktat dari air kelapa.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Manfaat Tumbuhan dalam Perspektif Islam

يُنَبِّتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالزَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

“Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan” (Q.S. An Nahl : 11).

Dalam tafsir Ibnu Katsir dijelaskan bahwa Allah SWT telah menyebutkan nikmat-Nya yang diberikan kepada manusia yaitu berupa turunnya hujan air langit, yang di dalam hujan itu ada air minum dan kenikmatan dunia untuk mereka. Allah SWT juga menjadikan air hujan tawar dan cair sehingga mudah bagimu meminumnya dan Allah SWT tidak menjadikannya asin ataupun pahit (Abdullah. 2003).

Dalam tafsir Fi Zhilalil-Qur'an juga menerangkan bahwa air hujan yang diterangkan disini mengingatkan kita akan nikmat-nikmat Allah, karena tak hanya sebagai minuman, air hujan juga menyuburkan sawah dan ladang tempat pembajakan binatang ternak. Setelah itu disusul dengan hasil pertanian yang sering dikonsumsi seperti zaitun, kurma, anggur dan jenis buah-buahan lainnya (Quthb, 1992).

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ

أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ^{٩٩} أَنْظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ^ج
 إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan Maka Kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang korma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pulalah) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (Q.S. Al An’am : 99).

Dalam tafsir Al Maraghi ayat tersebut juga menjelaskan bahwa Allah SWT menurunkan air dari langit dan ditumbuhkan berbagai macam tumbuhan yang subur dan dikeluarkan dari tumbuh-tumbuhan yang hijau dan subur itu berbagai macam tumbuhan yang serupa dan tidak serupa. Serupa dalam bentuk daun dan buahnya tapi berbeda dalam warna buah dan rasanya. Semua itu menunjukkan kekuasaan dan kebijaksanaan Allah SWT (Al Maraghi, 1980).

Berdasarkan ayat al-Qur’an tersebut, bahwa Allah SWT menyuburkan tumbuh-tumbuhan dimuka bumi dengan menurunkan air hujan. Dari tumbuh-tumbuhan tersebut terdapat begitu banyak manfaat untuk memenuhi kebutuhan hidup manusia. Salah satu tumbuhan yang memiliki manfaat hampir disemua bagiannya adalah pohon kelapa. Setiap bagian dari pohon kelapa mulai dari akar sampai buahnya dapat digunakan untuk memenuhi kebutuhan hidup manusia. Pada penelitian ini bagian pohon kelapa yang akan diambil manfaatnya adalah air kelapa.

Air kelapa merupakan hasil dari pohon kelapa yang banyak memiliki manfaat. Namun, pemanfaatan air kelapa hanya sebatas sebagai bahan minuman.

Sebagai bentuk pengkajian ayat-ayat Allah SWT, maka dilakukan penelitian untuk mengoptimalkan manfaat dari salah satu hasil tumbuhan ciptaan Allah SWT yaitu air kelapa. Manusia sebagai makhluk yang paling sempurna adalah khalifah yang dianjurkan untuk terus menggali ilmu dan memanfaatkan sumber daya yang telah disediakan Allah SWT tanpa merusak tatanan yang sudah ada. Seperti firman Allah SWT dalam surat Al An'am ayat 165 yang berbunyi :

وَهُوَ الَّذِي جَعَلَكُمْ خَلَائِفَ الْأَرْضِ وَرَفَعَ بَعْضَكُمْ فَوْقَ بَعْضٍ دَرَجَاتٍ لِّيَبْلُوكُمْ فِي مَا آتَاكُمْ إِنَّ رَبَّكَ سَرِيعُ الْعِقَابِ وَإِنَّهُ لَغَفُورٌ رَّحِيمٌ ﴿١٦٥﴾

“Dan Dia lah yang menjadikan kamu penguasa-penguasa di bumi dan Dia meninggikan sebahagian kamu atas sebahagian (yang lain) beberapa derajat, untuk mengujimu tentang apa yang diberikan-Nya kepadamu. Sesungguhnya Tuhanmu Amat cepat siksaan-Nya dan Sesungguhnya Dia Maha Pengampun lagi Maha Penyayang” (Q.S. Al An'am : 165).

2.2 Air Kelapa

Air kelapa mengandung sebagian besar nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan sel tumbuhan dan mikroba. Kandungan dalam air kelapa antara lain karbohidrat (glukosa, fruktosa, sukrosa dan sorbitol), asam amino esensial (lisin, histidin, tirosin dan triptofan), dan asam-asam organik dalam jumlah kecil. Jumlah karbohidrat dalam air kelapa dapat bervariasi dan kemungkinan mencapai konsentrasi 4-8%. Air kelapa memiliki pH antara 4,2-6 (Satheesh dan Prasad, 2013; Yanuar dan Aji, 2015). Kandungan gizi air kelapa dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan gizi air kelapa muda dan air kelapa tua

Zat Gizi (dalam 100 gram)	Air Kelapa Muda	Air Kelapa Tua
Kalori	17 kal	-
Protein	0,2 g	0,14 g
Lemak	1,0 g	1,5 g
Karbohidrat	3,8 g	4,6 g
Kalsium	15,0 g	-
Fosfor	8,0 g	0,5 g
Besi	0,2 g	-
Air	95,5 g	91,5 g

Sumber : Palungkun, 1992

Air kelapa merupakan hasil samping dari buah kelapa dengan total produksi di Indonesia mencapai 3,75 ton/tahun (Pranayanti dan Aji, 2015). Tingginya jumlah produksi belum diimbangi dengan pemanfaatan yang optimal. Selama ini air kelapa hanya dimanfaatkan sebagai pembuatan minuman kemasan, nata de coco dan asam cuka (Lay dan Pasang, 2003). Pemanfaatan air kelapa sebagai substrat untuk fermentasi asam laktat akan mampu mengoptimalkan manfaat air kelapa.

2.3 Asam Laktat

Asam laktat (asam 2-hidroksipropionat) adalah asam hidroksi paling sederhana yang memiliki atom karbon asimetris sehingga asam laktat memiliki dua isomer optik yaitu D-(-)-asam laktat dan L-(+)-asam laktat (Abate, 2016). Asam laktat dapat diproduksi secara sintesis dan fermentasi. Namun, hampir 70-80% asam laktat diproduksi dengan fermentasi dan sisanya diproduksi secara sintesis dengan hidrolisis laktonitril (Jin, dkk., 2005). Karakteristik asam laktat dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2. Karakteristik asam laktat

Sifat	Karakteristik
Aktivitas optik	Ada dalam bentuk D(-), L(+) dan campuran rasemik
Kristalisasi	Berbentuk Kristal pada kemurnian yang tinggi
Warna	Tidak berwarna sampai kekuningan
Kelarutan	Larut sempurna dalam air Tidak larut dalam kloroform dan karbon disulfide
Bau	Tidak berbau
Higroskopisitas	Higroskopis
Volatilitas	Rendah

Sumber : Abate, 2016

Asam laktat telah dinyatakan sebagai pengawet yang aman (GRAS, *generally regarded as safe*) oleh FDA (*Food and Drug Administration*) di Amerika (Vickroy, 1985). Karakteristik tersebut menyebabkan asam laktat sesuai untuk mengawetkan susu, daging, telur dan makanan laut (Dominguez dan Vazquez, 1999).

2.4 Fermentasi Asam Laktat

Fermentasi merupakan degradasi biologis substrat oleh mikroorganisme menjadi metabolit seperti etanol, asam sitrat dan asam laktat. Asam laktat diproduksi dari monosakarida atau disakarida yang dipecah melalui jalur glikolisis. Pada kondisi anaerob, proses glikolisis akan menghasilkan asam piruvat yang kemudian diubah menjadi asam laktat oleh enzim laktat dehidrogenase (Abate, 2016).

Berdasarkan jenis bakteri yang digunakan fermentasi asam laktat dibagi menjadi dua, yaitu homofermentatif dan heterofermentatif. Fermentasi jenis homofermentatif akan dihasilkan produk utama berupa asam laktat, sedangkan fermentasi jenis heterofermentatif selain menghasilkan asam laktat akan dihasilkan

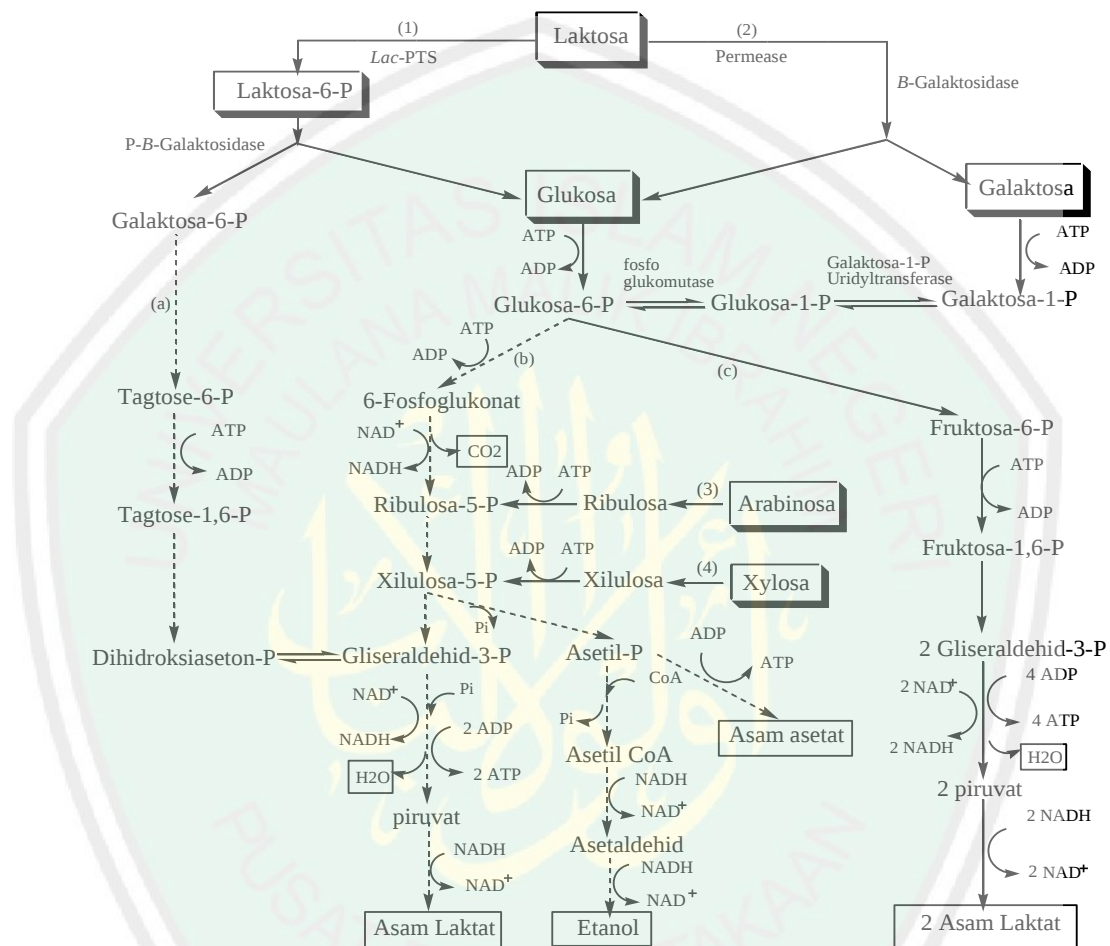
produk samping seperti asam asetat, etanol dan karbon dioksida (CO₂) (Li dan Fengjie, 2009). Beberapa contoh bakteri asam laktat yang merupakan bakteri homofermentatif adalah *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, dan *Lactobacillus*; sedangkan contoh bakteri heterofermentatif adalah *Leuconostoc* dan *Lactobacillus* (Abidin, 2016).

Dua jalur utama untuk pemecahan heksosa (glukosa dan galaktosa) dan pentose (xilosa dan arabinosa) oleh bakteri asam laktat adalah jalur Embden-Mayerhof-Parnas (EMP) dan Pentosa Phosphoketolase (PK). Dalam kondisi anaerob bakteri asam laktat homofermentatif mengkatalisis glukosa untuk menghasilkan dua mol piruvat atau campuran asam laktat, asam asetat dan etanol pada bakteri asam laktat heterofermentatif. Tahapan pemecahan glukosa ditunjukkan pada Gambar 2.1 (Li dan Fengjie, 2009).

Bakteri asam laktat homofermentatif akan mengkatalisis satu mol glukosa menjadi dua mol asam laktat melalui jalur EMP (Gambar 2.1 rute c). Secara garis besar jalur EMP dikelompokkan menjadi dua tahapan. Tahap pertama, glukosa diubah menjadi triosafosfat (Gliseraldehid-3-fosfat) dengan proses fosforilasi. Tahapan ini melibatkan 2 ATP yang diubah menjadi ADP. Tahap kedua, dimulai dari reaksi oksidasi triosafosfat hingga terbentuk asam laktat. Pada tahap ini dihasilkan 4 ATP namun hasil bersihnya hanya 2 ATP karena 2 ATP yang lain digunakan pada tahap pertama (Poedjiadi, 2012).

Bakteri asam laktat heterofermentatif akan merubah glukosa menjadi asam laktat, etanol dan karbon dioksida melalui jalur PK (Gambar 2.1 rute c). pada jalur PK Satu mol glukosa-6-fosfat pada awalnya didehidrogenasi menjadi 6-fosfoglukonat dan kemudian dekarboksilasi untuk menghasilkan satu mol CO₂. Ribulosa-5-fosfat yang dihasilkan dibelah menjadi satu mol gliseraldehid-3-fosfat

dan satu mol asetil fosfat. Gliseraldehida-3-fosfat lebih lanjut dimetabolisme menjadi asam laktat, sedangkan asetil fosfat direduksi menjadi etanol melalui intermediet asetil-KoA dan aetaldehida (Li dan Fengjie, 2009).



Gambar 2.1. Jalur metabolisme bakteri asam laktat (Li dan Fengjie, 2009)

2.5 Konsentrasi Inokulum

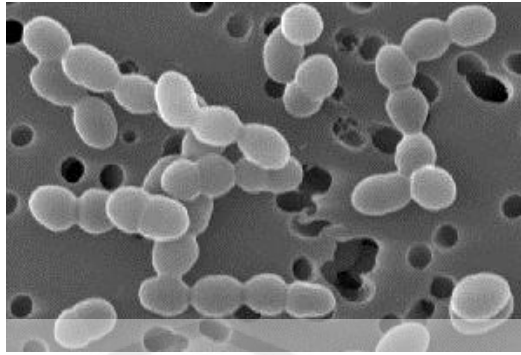
Inokulum merupakan merupakan biakan bakteri yang dimasukkan kedalam media cair yang siap digunakan untuk fermentasi (Pelczar, dkk., 2007). Kadar inokulum pada proses fermentasi menunjukkan pengaruh terhadap produk hasil fermentasi. Franca, dkk (2009) telah melakukan penelitian tentang pengaruh

konsentrasi inokulum terhadap fermentasi asam laktat dari molase. Bakteri yang digunakan adalah *Lactobacillus delbrueckii* dengan variasi konsentrasi inokulum 2,5-15% dan diperoleh kadar asam laktat tertinggi yaitu 101 g/L pada perlakuan konsentrasi inokulum 5%. Syamsuddin, dkk (2013) juga telah melakukan penelitian pengaruh konsentrasi inokulum pada produksi asam laktat dari susu skim. Bakteri yang digunakan adalah campuran dari *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus* dengan variasi konsentrasi inokulum 3, 5 dan 7%, kadar asam laktat tertinggi diperoleh pada konsentrasi inokulum 5%.

2.6 *Leuconostoc mesenteroides*

Leuconostoc mesenteroides adalah salah satu bakteri asam laktat yang berbentuk kokus (bulat) dengan membentuk rantai panjang atau berpasangan selama pertumbuhannya seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif dan termasuk dalam spesies non-motil atau tidak memiliki alat gerak (Makarova, dkk., 2006). *Leuconostoc mesenteroides* merupakan bakteri asam laktat heterofermentatif dengan hasil fermentasi berupa asam laktat, etanol dan CO₂ (Demoss, dkk., 1951). Klasifikasi *Leuconostoc mesenteroides* adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Leuconostocaceae
Genus	: <i>Leuconostoc</i>
Spesies	: <i>L. mesenteroides</i>

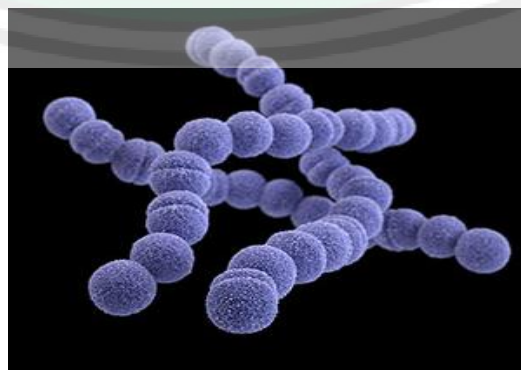


Gambar 2.2 *Leuconostoc mesenteroides* (www.ncbi.nlm.nih.gov)

2.7 *Streptococcus* sp.

Streptococcus merupakan bakteri gram positif dan dapat hidup dengan atau tanpa oksigen (aerob fakultatif). Bakteri ini termasuk bakteri asam laktat homofermentatif dengan bentuk bulat (kokus) yang menghasilkan L(+) asam laktat sebagai produk akhir fermentasi gula. Sel-sel *Streptococcus* biasanya berpasangan atau membentuk rantai (Toit, dkk., 2014). Bentuk *Streptococcus* ditunjukkan pada Gambar 2.3. Klasifikasi *Streptococcus* sp. adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Bacteria
Divisi	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Ordo	: Lactobacillales
Famili	: Streptococcaceae
Genus	: <i>Streptococcus</i>

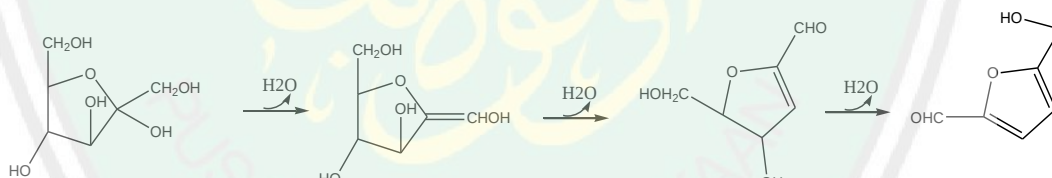


Gambar 2.3 *Streptococcus* sp. (www.cdc.gov)

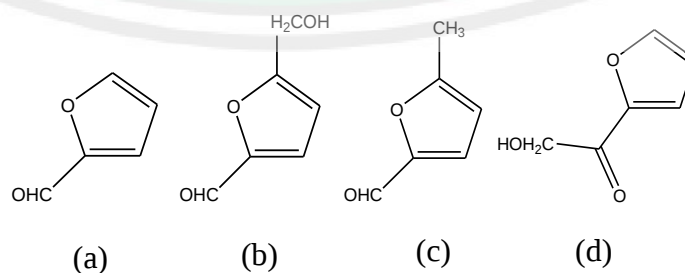
2.8 Pengukuran Kadar Total Gula Metode Sulfat Fenol

Pengukuran kadar karbohidrat dilakukan dengan metode sulfat fenol. Metode ini merupakan metode yang paling sering digunakan untuk menentukan konsentrasi karbohidrat dalam larutan (Albalasmeh, dkk., 2013). Prinsip dasar metode ini adalah dehidrasi karbohidrat oleh asam sulfat pekat membentuk senyawa furfural yang bereaksi dengan fenol menghasilkan senyawa berwarna jingga kekuningan yang dapat dideteksi oleh spektrofotometer UV-Vis (Qalsum, dkk., 2015).

Penambahan asam kuat dan pemanasan pada karbohidrat akan menghasilkan senyawa turunan furan seperti furanaldehid dan hidroksimetil furanaldehida. Beberapa senyawa turunan furan yang terbentuk tergantung dari jenis karbohidrat ditunjukkan pada Gambar 2.5 (Cui, 2005). Reaksi awal yaitu dehidrasi diikuti dengan pembentukan furan. Reaksi dehidrasi karbohidrat ditampilkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.4 Reaksi dehidrasi karbohidrat (Lewkowski, 2001)



Gambar 2.5 Furan turunan dari (a) pentose, (b) heksosa, (c) 6-dioksiheksosa, (d) keto-heksosa (Cui, 2005)

2.9 Pengukuran Total Asam Laktat Metode Titrimetri

Titration untuk penentuan kadar asam laktat adalah titration asam basa (netralisasi). Titration netralisasi digunakan untuk menentukan kadar analit yang bersifat asam atau basa (Gusdinar, 2008). Pengamatan titik akhir titration pada titration asam basa dapat ditentukan dengan penambahan indikator. Salah satu indikator yang digunakan pada titration asam basa adalah fenolftalein (pp) (Underwood, 2001).

Asam laktat diukur melalui metode titration, total asam secara tidak langsung menunjukkan asam laktat yang dihasilkan. Metode titration hanya mengukur titik ekuivalen dimana asam yang terbentuk selama proses fermentasi akan dinetralkan dengan basa NaOH. Kekurangan metode ini adalah adanya kemungkinan kesalahan penentuan titik akhir titration. Meskipun demikian, metode ini telah banyak digunakan oleh para peneliti sebelumnya. Metode ini mudah digunakan, harganya murah, serta mudah ditemukan di laboratorium (Nurjannah, dkk., 2017).

Asam laktat dititration menggunakan basa NaOH menghasilkan garam natrium laktat dan air. Adapun reaksi yang terjadi antara asam laktat dengan NaOH adalah sebagai berikut (Abidin, 2016) :



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2018 - Januari 2019 di Laboratorium Bioteknologi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu penentuan kadar gula sampel, preparasi biakan bakteri, fermentasi asam laktat dan penentuan kadar asam laktat. Alat-alat yang dibutuhkan pada tahap penentuan kadar glukosa dalam sampel adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, penangas, pipet ukur 5 mL, bola hisap, *hotplate* dan spektrofotometer UV-Vis.

Tahap selanjutnya yaitu preparasi biakan bakteri, alat yang digunakan adalah erlenmeyer 500 mL dan 250 mL, neraca analitik, spatula, gelas arloji, stirrer, *hotplate*, autoklaf, jarum ose, *shaker*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, laminar dan cawan petri. Tahap selanjutnya yaitu proses fermentasi dan penentuan kadar asam laktat, alat yang dibutuhkan pada tahap ini adalah erlenmeyer, autoklaf, *shaker*, *sentrifuge*, statif dan buret.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam preparasi biakan bakteri adalah kultur *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptococcus* sp., MRSA (*de Man Rogosa and*

Sharpe Agar), MRSB (*de Man Rogosa and Sharpe Broth*) dan NaCl 0,9%. Pada tahap penentuan kadar gula total sampel, bahan yang dibutuhkan adalah air kelapa (diperoleh dari pasar Belimbing. Kelapa-kelapa tersebut dikirim dari desa Sitiarjo kecamatan Sumbermanjing wetan kabupaten Malang). glukosa, asam sulfat 98% dan fenol 5%. Tahap selanjutnya yaitu fermentasi dan analisis asam laktat, bahan yang dibutuhkan yaitu air kelapa, *yeast extract*, NaOH 0,1 N, asam oksalat 0,1 N, indikator fenoltalein (pp) dan inokulum bakteri.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini bersifat kuantitatif menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial (RAKF) yang terdiri dari dua faktor sebagai variabel bebas, yaitu jenis bakteri asam laktat (B) dan konsentrasi inokulum (I), sedangkan variabel terikatnya adalah kadar asam laktat, pH dan kadar gula terfermentasi. Percobaan ini dilakukan dengan 3 kali ulangan. Kombinasi perlakuan jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum digambarkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Kombinasi jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum

Konsentrasi Inokulum (%) (I)	Jenis Bakteri Asam Laktat (B)	
	<i>Streptococcus</i> sp. (B ₁)	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (B ₂)
5 (I ₁)	I ₁ B ₁	I ₁ B ₂
10 (I ₂)	I ₂ B ₁	I ₂ B ₂
15 (I ₃)	I ₃ B ₁	I ₃ B ₂

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan penelitian ini adalah :

1. Penentuan kadar gula air kelapa dengan metode sulfat fenol
2. Pembuatan media MRSA dan MRSB

3. Regenerasi bakteri asam laktat
4. Pembuatan inokulum bakteri asam laktat
5. Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri asam laktat
6. Uji pengaruh variasi konsentrasi inokulum dan jenis bakteri asam laktat terhadap produksi asam laktat dari air kelapa
7. Analisis kadar asam laktat
8. Perhitungan jumlah sel bakteri asam laktat
9. Perhitungan *yield*
10. Analisis data

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Penentuan Kadar Gula Air Kelapa dengan Metode Sulfat Fenol (Dubois, dkk., 1956)

3.5.1.1 Pembuatan Kurva Standar

Larutan glukosa dengan konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm masing-masing dimasukkan sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL larutan fenol 5%(b/v) dan dihomogenkan. Ditambahkan 5 mL asam sulfat.dan didiamkan selama 10 menit lalu ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.1.2 Penentuan Total Gula Sampel

Sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 1 mL larutan fenol 5%(b/v) dan dihomogenkan. Ditambahkan 5 mL asam sulfat.dan didiamkan selama 10 menit lalu ditempatkan dalam penangas air

selama 15 menit kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm.

3.5.2 Pembuatan Media MRSA dan MRSB (Chaisu, 2013)

Media MRSA dibuat dengan menimbang 68,2 gram MRSA kemudian dilarutkan dengan 1 liter akuades dan Media MRSB dibuat dengan menimbang 55,15 gram MRSB kemudian dilarutkan dengan 1 liter akuades. Kedua media dipanaskan sampe mendidih sambil diaduk hingga larut. Selanjutnya masing-masing media tersebut dimasukkan dalam beberapa erlenmeyer 500 mL dan disterilkan dalam autoklaf.

3.5.3 Regenerasi Bakteri Asam Laktat

Biakan *Leucosnostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. masing-masing diambil sebanyak satu ose dan digoreskan ke dalam media MRSA. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri harus selalu diregenerasi sebelum diuji untuk mendapatkan biakan bakteri yang sedang berada dalam fase pertumbuhan.

3.5.4 Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat

Satu ose masing-masing biakan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. dipindahkan ke dalam 20 mL media MRSB. Selanjutnya *dishaker* pada kecepatan 100 rpm selama 18 jam pada suhu ruang. Inokulum ini akan digunakan untuk uji selanjutnya.

3.5.5 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat (Setianingsih, 2010)

Tahap ini bertujuan untuk mengetahui fase-fase pertumbuhan sebagai dasar penentu lama waktu fermentasi kultur *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. Pembuatan kurva pertumbuhan diawali dengan menginokulasikan inokulum masing-masing bakteri sebanyak 10% kedalam erlenmeyer yang berisi 250 mL media air kelapa secara aseptis. Pertumbuhan bakteri diamati dengan cara memipet 15 mL suspensi bakteri dan dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) berdasarkan nilai absorbansi setiap 2 jam (waktu inkubasi 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18, 20, 22 dan 24 jam). Pengukuran dilakukan menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm.

3.5.6 Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Jenis Bakteri Asam Laktat Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa

Air kelapa sebagai substrat diambil 100 mL dan diatur menjadi pH 6,5 kemudian disterilisasi dengan autoklaf. Air kelapa hasil sterilisasi didinginkan dan ditambahkan nutrien berupa *yeast extract*. Selanjutnya, ditambahkan inokulum masing-masing bakteri dengan konsentrasi 5, 10 dan 15% lalu dishaker pada suhu ruang selama 22 jam untuk *Leuconostoc mesenteroides* dan 20 jam untuk *Streptococcus* sp. Cairan hasil fermentasi disentrifus dan diambil supernatannya. Analisis yang dilakukan meliputi analisis pH, kadar gula total dan kadar asam laktat.

3.5.7 Analisis Kadar Asam Laktat dengan Metode Titrimetri (Purnavita, 2014)

Larutan produk hasil fermentasi diambil 5 mL dan dimasukkan kedalam Erlenmeyer kemudian diencerkan sampai 100 mL. Selanjutnya, ditambah indikator fenolftalein (pp) 1% sebanyak 2-3 tetes dan dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah muda. Titrasi dilakukan secara triplo. Dihitung kadar asam laktat menggunakan Persamaan 3.1.

$$\text{Kadar asam laktat \%} = \frac{V \times N \times B \times fp \times 100\%}{\text{Volume sampel} \times 1000} \dots\dots\dots (3.1)$$

V = Volume larutan NaOH 0,1 N

N = Normalitas NaOH

B = Bobot setara asam laktat (90 g/mol)

Fp = Faktor pengenceran

3.5.8 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat (Harmita, dkk., 2008)

Tabung reaksi sebanyak 10 buah diisi dengan NaCl 0,9% steril dengan volume 9 mL. Inokulum masing-masing *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam 2 tabung berbeda lalu dihomogenisasi dan dihitung sebagai pengenceran pertama (10^{-1}). Larutan dari tabung pertama dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan kedalam tabung kedua sehingga diperoleh pengenceran tingkat kedua (10^{-2}). Dilanjutkan hingga didapatkan pengenceran (10^{-10}).

Penghitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan metode *total plate count* (TPC). Masing-masing pengenceran diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan dalam cawan petri yang berisi media MRSA. Didiamkan hingga

membeku kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Perhitungan jumlah bakteri ditunjukkan pada Persamaan 3.2.

$$\text{Perhitungan jumlah bakteri (CFU)} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{fp} \dots \dots \dots (3.2)$$

3.5.9 Penentuan *yield* (Pramudyanti, dkk., 2004)

Yield diperoleh dari perbandingan asam laktat yang dihasilkan dengan konsumsi gula. Perhitungan *yield* ditunjukkan pada Persamaan 3.3.

$$Yp/s = \frac{\text{Produk asam laktat g/L}}{\text{Konsumsi glukosa sebagai total gula g/L}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.3)$$

3.5.10 Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan Two Way Analisa Varian (ANOVA) dengan menggunakan SPSS 21 untuk menguji adanya pengaruh variasi konsentrasi inokulum dan jenis bakteri asam laktat terhadap kadar dan *yield* asam laktat. Apabila terdapat pengaruh maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Jujur dengan taraf nyata 5% (BNJ 5%).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Preparasi Sampel

Air kelapa mengandung berbagai nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Gula merupakan salah satu nutrisi dalam air kelapa yang dibutuhkan bakteri asam laktat untuk tumbuh dan menghasilkan asam laktat. Menurut Yanuar dan Aji (2015) kandungan gula pada air kelapa mencapai 4%. Berbeda dengan penelitian tersebut, air kelapa yang digunakan pada penelitian ini memiliki kadar gula sebesar 2,85% yang ditunjukkan pada Tabel 4.1. Kandungan gula dalam air kelapa dapat bervariasi bergantung pada jenis dan umur buah kelapa.

Sebelum digunakan sebagai media fermentasi, air kelapa dipreparasi dengan melakukan pengaturan tingkat keasaman menjadi pH 6,5 dan penambahan *yeast extract*. Menurut Mataragas, dkk (2003) kisaran pH optimum pertumbuhan bakteri asam laktat adalah 6,0-6,5. Selain itu, Pengaturan pH perlu dilakukan karena menurut Ferdaus (2008) kondisi pH media sangat berpengaruh pada jenis mikroba yang tumbuh.

Penambahan *yeast extract* berfungsi sebagai sumber nitrogen untuk pertumbuhan bakteri asam laktat. Jumlah *yeast extract* yang ditambahkan adalah 0,25 gram dalam 100 ml. Jumlah ini mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Choonut, dkk (2016) dimana penambahan *yeast extract* yang paling baik untuk produksi asam laktat adalah sebanyak 0,25 g/100 mL.

Air kelapa yang akan difermentasi diukur kadar gulanya agar dapat diketahui jumlah konsumsi gula selama fermentasi dengan menghitung selisih

kadar gula sebelum dan sesudah fermentasi. Pengukuran kadar gula dilakukan dengan metode sulfat fenol. Hasil pengukuran kadar gula ditunjukkan pada Tabel 4.1.

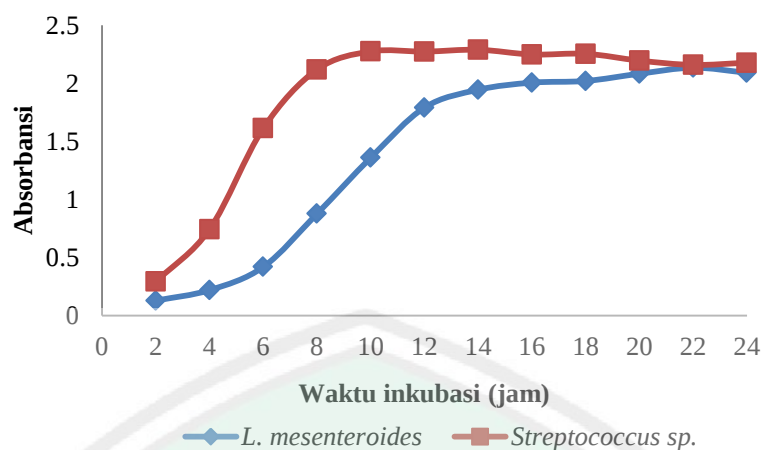
Tabel 4.1 Rata-rata kadar gula air kelapa

Sampel	Rata-rata (%)
Bahan baku mentah	2,81±0,26
Bahan baku fermentasi	2,67±0,34

Bahan baku mentah adalah air kelapa segar sedangkan bahan baku fermentasi adalah air kelapa yang telah disterilisasi dan ditambah *yeast extract*. Berdasarkan Tabel 4.1 kadar gula bahan baku mentah dan bahan baku fermentasi tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan *yeast extract* dan pemanasan pada saat sterilisasi tidak mempengaruhi kadar gula pada bahan baku.

4.2 Pembuatan Inokulum

Inokulum merupakan biakan bakteri yang dimasukkan ke dalam media cair yang siap digunakan untuk fermentasi (Pelczar, dkk., 2007). Terdapat dua jenis inokulum, yaitu inokulum induk dan inokulum kerja. Inokulum kerja dibuat dari inokulum induk yang diencerkan dengan MRS *Broth* steril untuk menyetarakan nilai absorbansinya. Penyetaraan nilai absorbansi dilakukan untuk menyamakan jumlah mikroba dalam inokulum sebelum diinokulasikan pada media. Lama waktu inkubasi untuk pembuatan inokulum induk ditentukan berdasarkan hasil kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. dalam media MRS *Broth*. Hasil kurva pertumbuhan ditunjukkan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus sp.* dalam media MRSB

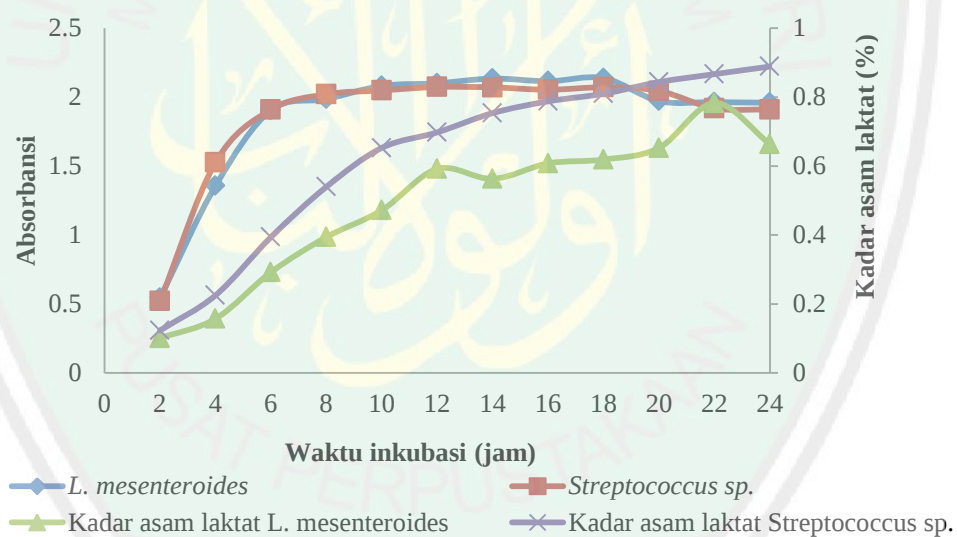
Berdasarkan Gambar 4.1 *Leuconostoc mesenteroides* mengalami fase eksponensial mulai jam ke-2 sampai jam ke-14 dan fase stasioner dimulai pada jam ke-14 sampai jam ke-24. *Streptococcus sp.* mengalami fase logaritmik pada jam ke-2 sampai jam ke-10 dan fase stasioner dimulai pada jam ke-10 sampai jam ke-24. Hasil kurva pertumbuhan pada penelitian ini hampir sama dengan Kusmiati dan Amarilla (2002) yang mengamati pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* pada media MRS Broth. Fase adaptasi terjadi selama 4 jam inkubasi. Fase eksponensial dimulai pada jam ke-4 sampai jam ke-18 kemudian mengalami fase stasioner sampai jam ke-22. Setianingsih (2010) mengamati pertumbuhan *Streptococcus sp.* pada media MRS Broth. Fase adaptasi terjadi mulai jam ke-0 sampai jam ke-3. Fase logaritmik dimulai pada jam ke-3 sampai jam ke-13 kemudian memasuki fase stasioner pada jam ke-13 sampai jam ke-21.

Hasil kurva pertumbuhan pada media MRS Broth menunjukkan waktu inkubasi untuk pembuatan inokulum adalah 18 jam. Pada jam ke-18 *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus sp.* berada pada fase stasioner, yaitu fase dimana terdapat banyak sel-sel yang masih aktif yang ditandai dengan nilai absorbansi

yang tinggi. Penggunaan kultur bakteri aktif pada proses fermentasi akan dapat mengoptimalkan dan mempercepat proses fermentasi.

4.3 Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat dalam Media Air Kelapa

Kurva pertumbuhan adalah informasi mengenai fase hidup suatu bakteri dan digunakan untuk mengetahui pengaruh lingkungan terhadap kecepatan pertumbuhan sel. Fase-fase hidup bakteri meliputi fase adaptasi, log (eksponensial), stationer dan kematian (Sharah, dkk., 2015). Pada penelitian ini, kurva pertumbuhan digunakan untuk mengetahui waktu optimum untuk *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. dalam menghasilkan asam laktat dari media air kelapa.



Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. dalam media air kelapa

Kurva pertumbuhan dilakukan dalam media air kelapa yang telah ditambah dengan *yeast extract*. Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. diinokulasikan pada media tersebut kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang dan diukur absorbansinya setiap 2 jam. Kurva

pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. ditunjukkan pada Gambar 4.2.

Berdasarkan Gambar 4.2 pada media air kelapa *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. mengalami fase logaritmik pada jam yang sama yaitu dimulai pada jam ke-2 sampai jam ke-6. Selanjutnya *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. mengalami fase stasioner sampai jam ke-24. Selama pertumbuhan bakteri asam laktat akan menghasilkan asam laktat yang semakin meningkat dengan semakin lamanya waktu inkubasi.

Hasil kadar asam laktat yang diperoleh selama kurva pertumbuhan digunakan sebagai penentu lama waktu inkubasi untuk fermentasi air kelapa. *Leuconostoc mesenteroides* menghasilkan kadar asam laktat tertinggi (0,783%) pada jam ke-22 sehingga lama waktu fermentasi *Leuconostoc mesenteroides* dalam media air kelapa adalah 22 jam. Selain itu, setelah 22 jam inkubasi absorbansi *Leuconostoc mesenteroides* telah menurun yang menunjukkan terdapat beberapa sel yang telah mati. Berbeda dengan *Leuconostoc mesenteroides*, lama waktu fermentasi *Streptococcus* sp. adalah 20 jam dengan kadar asam laktat yang diperoleh adalah 0,844%. Waktu inkubasi 20 jam dipilih karena setelah jam ke-20 kenaikan kadar asam laktat tidak berbeda signifikan dan nilai absorbansi telah menurun.

4.4 Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Jenis Bakteri Asam Laktat Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa

Proses fermentasi dilakukan dengan variasi konsentrasi inokulum 5, 10 dan 15% dengan waktu inkubasi 20 jam untuk *Streptococcus* sp. dan 22 jam untuk bakteri *Leuconostoc mesenteroides*. Selama proses fermentasi akan terjadi penurunan pH karena adanya penumpukan asam laktat yang terbentuk. Analisis

kadar asam laktat dilakukan dengan metode titrasi. Total asam secara tidak langsung menunjukkan kadar asam laktat yang terbentuk. Metode titrasi akan mengukur titik ekuivalen, dimana asam laktat akan bereaksi dengan basa NaOH sebagai peniternya. Rata-rata hasil analisis pH dan kadar asam laktat ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Rata-rata nilai pH dan kadar asam laktat

Perlakuan	pH	Rata-rata kadar asam laktat (%)
B ₁ I ₁	3,96±0,11	0,787±0,10
B ₁ I ₂	3,93±0,15	0,772±0,11
B ₁ I ₃	3,86±0,15	0,822±0,12
B ₂ I ₁	3,86±0,11	0,803±0,13
B ₂ I ₂	3,86±0,11	0,786±0,08
B ₂ I ₃	3,86±0,11	0,805±0,12

B₁ : *Streptococcus* sp. B₂ : *Leuconostoc mesenteroides*, I₁ : 5%, I₂ : 10%, I₃ : 15%

Tabel 4.2 menunjukkan kadar asam laktat tertinggi diperoleh pada perlakuan B₁I₃ yaitu fermentasi oleh *Streptococcus* sp. dengan konsentrasi inokulum 15% dan kadar asam laktat terendah diperoleh pada perlakuan B₁I₂ yaitu fermentasi oleh *Streptococcus* sp. dengan konsentrasi inokulum 10%. Berdasarkan hasil analisis uji statistik *Two Way ANOVA* menunjukkan bahwa jenis bakteri, konsentrasi inokulum serta interaksi antara jenis bakteri dan konsentrasi inokulum tidak memberikan pengaruh signifikan ($\text{sig} > 0,05$) terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan.

Kadar asam laktat yang dihasilkan selama proses fermentasi oleh *Streptococcus* sp. berkisar antara 0,772-0,822% dan *Leuconostoc mesenteroides* berkisar antara 0,786-0,805%. Kadar asam laktat ini lebih kecil dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang melakukan fermentasi menggunakan *Streptococcus* sp. dan *Leuconostoc mesenteroides*. Dalam media sari kurma

Streptococcus sp. menghasilkan asam laktat sebesar 3,69% dan 2,10% dalam media minuman bengkoang (Bouhadi, dkk., 2017; Suharyono dan Muhammad, 2010). *Leuconostoc mesenteroides* menghasilkan 4,38% asam laktat dari sari tebu dan 3,84% asam laktat dari molase. (Coelho, dkk., 2011). Perbedaan kadar asam laktat yang diperoleh dengan penelitian sebelumnya dapat disebabkan karena perbedaan jenis substrat dan lama waktu fermentasi.

Nilai pH setelah fermentasi pada tiap perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan karena kadar asam laktat pada tiap perlakuan memiliki selisih yang kecil. Penurunan pH oleh *Streptococcus* sp. dan *Leuconostoc mesenteroides* berkisar antara 3,86-3,96. Nilai ini hampir sama dengan penelitian sebelumnya yang mengatakan penurunan pH selama fermentasi oleh *Streptococcus* sp. dan *Leuconostoc mesenteroides* adalah sekitar 3,8 (Kusmiati dan Amarila, 2002; Suharyono dan Muhamad, 2010).

4.5 Efisiensi Proses Fermentasi

Efisiensi proses fermentasi dapat diketahui dengan menentukan *yield* asam laktat (Yp/s). Semakin tinggi *yield* menunjukkan proses fermentasi yang semakin baik. *Yield* merupakan perbandingan asam laktat yang dihasilkan dengan gula yang dikonsumsi. Banyaknya gula yang dikonsumsi oleh bakteri asam laktat diperoleh dengan menghitung selisih kadar gula air kelapa sebelum dan sesudah fermentasi. Hasil rata-rata kadar gula yang dikonsumsi dan *yield* asam laktat dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Rata-rata kadar gula yang dikonsumsi dan *yield* fermentasi

Perlakuan	Kadar gula (%)	Yield Fermentasi (%)
B ₁ I ₁	1,89±0,26	41,67±3,90
B ₁ I ₂	1,81±0,36	42,85±5,04
B ₁ I ₃	2,02±0,23	41,02±7,58
B ₂ I ₁	1,85±0,17	43,34±6,74
B ₂ I ₂	1,86±0,23	42,44±2,14
B ₂ I ₃	1,85±0,12	43,63±7,53

B₁ : *Streptococcus* sp. B₂ : *Leuconostoc mesenteroides*, I₁ : 5%, I₂ : 10%, I₃ : 15%

Berdasarkan Tabel 4.3 *yield* tertinggi 43,63% diperoleh pada perlakuan B₂I₃ yaitu fermentasi oleh *Leuconostoc mesenteroides* pada konsentrasi inokulum 15%. Hasil analisis uji statistik *Two Way ANOVA* menunjukkan bahwa jenis bakteri, konsentrasi inokulum serta interaksi antara jenis bakteri dan konsentrasi inokulum tidak memberikan pengaruh signifikan ($\text{sig} > 0,05$) terhadap *yield* asam laktat.

Leuconostoc mesenteroides dan *Streptococcus* sp. menunjukkan *yield* yang berbeda karena adanya perbedaan metabolisme pada masing-masing mikroba. Menurut Mousavi, dkk (2011) metabolisme karbohidrat dapat bervariasi tergantung jenis mikroba, substrat dan lama waktu fermentasi. Beberapa penelitian tentang fermentasi air kelapa menunjukkan nilai *yield* yang berbeda. Gangwar, dkk (2018) memperoleh *yield* 65,43% sedangkan Giri dkk, (2018) hanya memperoleh *yield* sebesar 30,22%. Perbedaan hasil penelitian ini sangat mungkin terjadi karena adanya perbedaan jenis mikroba dan jumlah gula pada air kelapa.

4.6 Viabilitas Bakteri Asam Laktat dalam Media Air Kelapa

Viabilitas adalah kemampuan hidup dari suatu mikroba untuk mempertahankan hidupnya (Nurkatika, dkk., 2001). Penentuan kemampuan hidup

Leuconostoc mesenteroides dan *Streptococcus* sp. diukur dalam media air kelapa pada konsentrasi inokulum berbeda. Viabilitas diketahui dari hasil perhitungan jumlah koloni bakteri asam laktat dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Hasil rata-rata perhitungan jumlah koloni disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Rata-rata jumlah koloni Bakteri

Perlakuan	Jumlah Koloni (CFU/mL)
B ₁ I ₁	4,46 x 10 ¹²
B ₁ I ₂	5,90 x 10 ¹⁰
B ₁ I ₃	9,16 x 10 ⁸
B ₂ I ₁	2,78 x 10 ⁹
B ₂ I ₂	5,98 x 10 ¹⁰
B ₂ I ₃	3,47 x 10 ⁹

B₁ : *Streptococcus* sp. B₂ : *Leuconostoc mesenteroides*, I₁ : 5%, I₂ : 10%, I₃ : 15%

Hasil analisis dengan *Two Way ANOVA* menunjukkan bahwa jenis bakteri, konsentrasi inokulum serta interaksi antara jenis bakteri dan konsentrasi inokulum tidak memberikan pengaruh signifikan (sig > 0,05) terhadap viabilitas kedua bakteri dalam air kelapa. Meskipun hasil uji statistik menunjukkan tidak ada pengaruh signifikan, namun berdasarkan Tabel 4.4 setiap bakteri memiliki viabilitas yang berbeda. *Streptococcus* sp. memiliki viabilitas paling tinggi pada konsentrasi inokulum 5% sedangkan *Leuconostoc mesenteroides* pada konsentrasi inokulum 10%.

Perbedaan tingkat viabilitas kedua bakteri dapat disebabkan oleh beberapa hal, seperti perbedaan tingkat adaptasi *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. pada pH rendah setelah fermentasi atau jumlah mikroba yang semakin meningkat dengan bertambahnya konsentrasi inokulum. Meningkatnya konsentrasi inokulum menyebabkan kompetisi dalam mempertahankan hidup semakin besar. Lee, dkk (2013) menyebutkan beberapa faktor yang dapat

mempengaruhi viabilitas bakteri asam laktat antara lain jenis mikroba, konsentrasi asam laktat yang terbentuk selama fermentasi dan pH setelah fermentasi.

4.7 Tinjauan Hasil Penelitian dalam Perspektif Islam

Semua isi bumi diciptakan Allah SWT untuk memenuhi kebutuhan manusia, artinya setiap ciptaan pasti memiliki manfaat. Beberapa dapat diambil manfaatnya secara langsung dan beberapa memerlukan proses pengolahan terlebih dahulu untuk dapat dimanfaatkan. Allah SWT berfirman dalam surat Al Baqarah ayat 29 yang berbunyi :

هُوَ الَّذِي خَلَقَ لَكُمْ مَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا ثُمَّ أَسْتَوَىٰ إِلَى السَّمَاءِ فَسَوَّاهُنَّ سَبْعَ سَمَوَاتٍ وَهُوَ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴿٢٩﴾

“Dia-lah Allah, yang menjadikan segala yang ada di bumi untuk kamu dan Dia berkehendak (menciptakan) langit, lalu dijadikan-Nya tujuh langit. dan Dia Maha mengetahui segala sesuatu” (Q.S. Al Baqarah : 29).

Allah SWT juga menciptakan segala sesuatu di muka bumi dengan tidak ada yang sia-sia. Semua yang diciptakan Allah SWT pasti ada tujuan dan hikmahnya. Sebagaimana firman Allah dalam surat Shaad ayat 27 yang berbunyi :

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ۚ ذَٰلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا ۚ فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ ﴿٢٧﴾

“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, Maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka” (Q.S. Shaad : 27).

Semua ciptaan Allah SWT memiliki banyak manfaat yang dapat diambil bagi manusia yang berakal dan berilmu. Salah satu contohnya adalah penciptaan tumbuh-tumbuhan. Tumbuh-tumbuhan dapat memenuhi kebutuhan hidup manusia mulai dari sandang, pangan dan papan. Meskipun begitu, masih banyak manfaat tumbuh-tumbuhan yang belum diketahui oleh manusia. Seperti air kelapa yang dapat digunakan sebagai bahan fermentasi untuk menghasilkan asam laktat.

Produksi asam laktat dari air kelapa dilakukan dengan proses fermentasi oleh bakteri *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. pada kondisi tertentu sehingga dihasilkan asam laktat. Penelitian ini membuktikan bahwa segala ciptaan Allah SWT benar-benar tidak ada yang sia-sia. Bakteri yang berukuran sangat kecil memiliki tujuan dan hikmah dalam penciptaanya. Seperti bakteri asam laktat yang dapat menghasilkan asam laktat.

Asam laktat sendiri memiliki berbagai manfaat. Beberapa manfaat asam laktat adalah dapat digunakan sebagai pengasam, pengawet makanan, obat-obatan dan kosmetik (Talegani, dkk., 2014). Selain itu, asam laktat merupakan bahan baku dari *Polylactic Acid* (PLA) yang bersifat *biodegradable* yang dapat digunakan sebagai bahan pembuatan plastik yang ramah lingkungan (Sobrun, dkk., 2012).

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, kadar asam laktat yang diperoleh mempunyai nilai selisih yang kecil. Namun, dapat dilihat kadar asam laktat tertinggi (0,822%) diperoleh pada perlakuan konsentrasi inokulum *Streptococcus* sp. 15%. *Yield* asam laktat tertinggi yaitu 43,63% diperoleh pada fermentasi oleh *Leuconostoc mesenteroides* pada konsentrasi inokulum 15% dengan kadar asam laktat sebesar 0,805% dan konsumsi gula sebanyak 1,85%. Uji statistik menunjukkan tidak adanya pengaruh signifikan ($\text{sig} > 0,05$) baik dari jenis bakteri, konsentrasi inokulum serta interaksi antara jenis bakteri dan konsentrasi inokulum terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan.

5.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya dapat dilakukan penambahan sumber gula yang lain pada air kelapa. Tambahan gula tersebut dapat berupa molase yang merupakan limbah namun mengandung kadar gula tinggi sehingga kadar asam laktat yang dihasilkan lebih meningkat. Selain itu, dapat dilakukan pengontrolan pH selama fermentasi agar mikroba tidak mati akibat penumpukan asam selama fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abate, Y. 2016. Synthesis and Production of Lactic Acid (LA) from False Banana/Bula using *Lactobacillus plantarum*. Tesis. Ethiopia : Addis Ababa Institute of Technology School of Chemical and Bio-engineering.
- Abdullah. 2003. *Tafsir Ibnu Katsir Jilid 5*. Bogor: Pustaka Imam asy-Syafi'i.
- Abidin, A.Z. 2016. Pengaruh Konsentrasi Substrat dan Inokulum *Lactobacillus plantarum* terhadap Produksi Asam Laktat dari Tetes Tebu. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Malang.
- Albalasmeh, A.A., Asmeret, A.B., dan Teamrat A.G. 2013. A New Method for Rapid Determination of Carbohydrate and Total Carbon Concentrations using UV Spectrophotometry. *Carbohydrate Polymers*, 97: 253–261.
- Al-Maraghi, A.M. 1980. *Terjemah Tafsir Al-Maraghi 7*. Semarang: CV. Toha Putra Semarang.
- Bouhadi, D., Raho, B., Hariri, A., Benattouche, Z., Sahnouni, F., Ould, Y.K., Bouallam, S.A. 2017. Utilization of Date Juice for The Production of Lactic Acid by *Streptococcus thermophilus*. *Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering*. 3(3): 362-364.
- Buyondo, J.P., dan Shijie, L. 2011. Lactic Acid Production by *Lactobacillus pentosus* from Wood Extract Hydrolysates. *Journal of Science & Technology for Forest Products and Processes*, 1(3).
- Center for Disease Control and Prevention. *Streptococcus* Laboratory. (Online), (<https://www.cdc.gov/streplab/groupa-strep/>), diakses 22 April 2019.
- Chaisu, K. 2013. Optimzation Lactic Acid Production from Molasses Renewable Raw Material Through Response Surface Methodology with *Lactobacillus casei* M-15. *APCBEE Procedia*, 8: 194-198.
- Choonut, A., Nisa, P., Tewan, Y., Kanokphorn, S. 2016. The Statistic Optimization for Lactic Acid Production by *Lactobacillus Plantarum* using Ethanol Stillage as Sole Carbon Source. *AIP Conference Proceedings*.
- Coelho, L.F., Cristian, J. Bolner, D.L., Marcela, P.B. Jonas, C. 2011. D(-) Lactic Acid Production by *Leuconostoc mesenteroides* B512 Using Different Carbon and Nitrogen Sources. *Appl Biochem Biotechnol*. 164: 1160-1171.

- Cui, S.W. 2005. *Food Carbohydrates : Chemistry, Physical Properties and application*. Taylor and Francis Group.
- Demoss, R.D., Bard., Gunsalus. 1951. The Mechanism of Heterolactic Fermentation: a New Route of Ethanol Formation. *J. Bacteriol.* 62: 499-511.
- Dominguez, J.M., dan Vazquez. 1999. Effect of The Operational Conditions on The L-Lactic Acid Production by *Rhizopus Oryzae*. *Cienc. Tecnol. Aliment*, 2(3): 113-118.
- Dubois. 1956. Colorimetric Method for Determination Sugar and Related Substance. *University of Minnesota*, 28(3): 350-356.
- Ferdaus, F., Meliani, O.W., Ery, S.R., Wenny, I. 2008. Pengaruh pH, Konsentrasi Substrat, Penambahan Kalsium Karbonat dan Waktu Fermentasi Terhadap Perolehan Asam Laktat dari Kulit Pisang. *Widya Teknik*. 7(1): 1-14.
- Franca, F.P., Jesus, A.M., dan [Oliveira, F.J.S.](#) 2009. Enhancement of Lactic Acid Fermentation by *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 6949 using Sugarcane Molasses. *Canadian Journal of Pure and Applied Science*, 3(2) : 773-778.
- Gangwar, A.S., Bhardwaj, A., dan Sharma, V. 2018. Fermentation of Coconut Water by Probiotic Bacteria *Bacillus coagulans*. *International Journal of Food Studies*. 7: 100-110.
- Giri, S.S., Sukumaran, V., Sen, S.S., dan Park, S.C. 2018. Use of a Potential Probiotic *Lactobacillus casei* L4 in the Preparation of Fermented Coconut Water Beverage. *Frontiers in Microbiology*. 9: 1976.
- Gusdinar, T. 2008. *Titration Netralisasi (Titration Asam-Basa)*. Bandung: Pharmacchemistry Research Group School of Pharmacy ITB.
- Harmita., dan Radji, M. 2008. *Kepekaan Terhadap Antibiotik* Edisi 3. Buku Ajar Analisis Hayati. Jakarta.
- Iswanto, H.P. 2014. Pengaruh Variasi Konsentrasi Substrat dan Inokulum Terhadap Produksi Etanol dari Tetes Tebu Menggunakan Isolat Khamir Kh2 Hasil Isolasi dari Tetes Tebu. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Saintek Universitas Islam Negeri Malang.
- Jin, B., Pinghe, Y., Yihong, M., dan Ling Z. 2005. Production of Lactic Acid and Fungal Biomass by *Rhizopus* Fungi from Food Processing Waste Streams. *Journal of Industry Microbiol Biotechnology*, 32: 678–686.
- Kusmiati dan Amarila, M. 2002. Aktivitas Bakteriosin dari Bakteri *Leuconostoc mesenteroides* Pbac1 pada Berbagai Media. *MAKARA, Kesehatan*. 6(1).

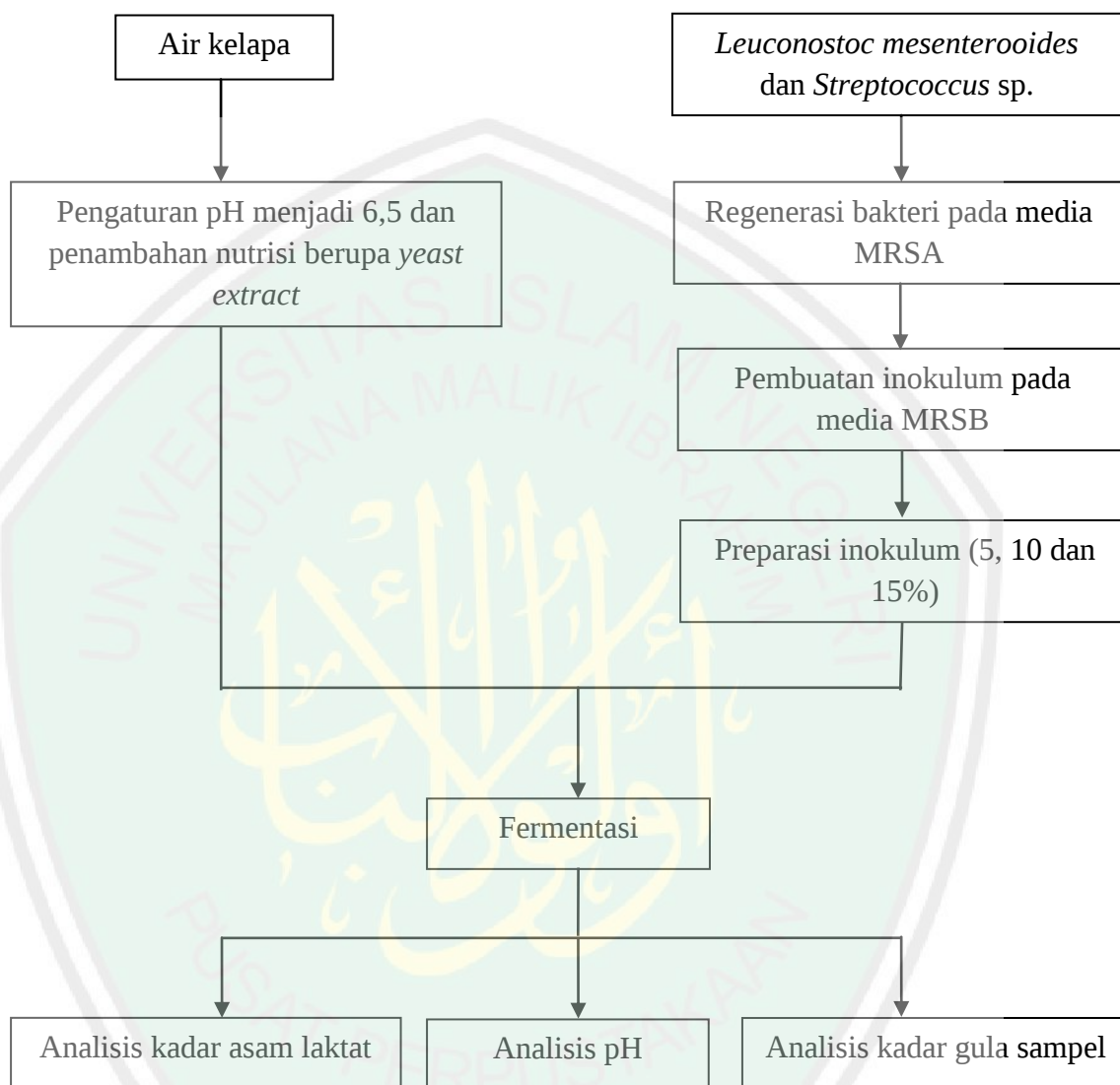
- Lay, A., dan Pasang, P.M. 2003. Teknologi Pengolahan dan Strategi Pengembangan Unit Pengolahan Kelapa Komersil di Tingkat Pedesaan. Kelembagaan Perkelapaan di Era Otonomi Daerah. *Prosiding Konferensi Nasional Kelapa V*; Tembilahan 22-24 Oktober 2002.
- Lee, P., Boo, C.X., dan Liu, S. 2013. Fermentation of Coconut Water by Probiotic Strain *Lactobacillus acidophilus* L10 and *Lactobacillus casei* L26. *Ann Microbiol.*
- Lewkowski, J. 2001. Synthesis, Chemistry and Applications of 5-Hydroxymethylfurfural And Its Derivatives. *ARKIVOC*, I(1): 17-54.
- Li, Y., dan Fengjie, C. 2009. *Microbial Lactic Acid Production from Renewable Resources*. Department of Food, Agricultural and Biological Engineering, Ohio Agricultural Research and Development Center, Ohio State University.
- Makarova, K., dkk. 2006. Comparative Genomics of The Lactic Acid Bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103: 15611–15616.
- Mataragas, M., Metaxopoulos, J., Galiotou, M., Drosinos, E.H. 2003. Influence of pH and Temperature by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442. *Meat Science*. 64(3): 265-271.
- Mousavi, Z.E., Mousavi, S.M., Razavi, S.H., Emam-Djomeh, Z., dan Kiani, H. 2011. Fermentation of Pomegranate Juice by Probiotic Lactic Acid Bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27: 123–128.
- Msyuya, N., Katima, J., Masanja, E., dan Temu, AK. 2017. Poly(lactic-acid) Production from Monomer to Polymer: A Review. *Scientific Federation Journal of Polymerscience*, 1(1).
- Nurjannah, L., Suryani., Suminar, S.A., Azmi, A. 2017. Produksi Asam Laktat oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* dengan Sumber Karbon Tetes Tebu. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*, 9(1).
- Nurkartika. 2001. *Intisari Biologi*. Jakarta : PT Aksarindo Primacipta.
- Organism Overview. *Leuconostoc mesenteroides*. (Online), ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Leuconostoc%20mesenteroides\[Organism\]&cmd=DetailsSearch](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Leuconostoc%20mesenteroides[Organism]&cmd=DetailsSearch)), diakses 22 April 2019.
- Palungkun, R. 1992. *Aneka Produk Tanaman Kelapa*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Pelczar, M. J. 2007. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Poedjiadi, A dan Titin, S. 2012. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.

- Pramudyanti, I.R., Purwoko, T., dan Pangaastuti, A. 2004. Pengaruh Pengaturan pH dengan CaCO_3 Terhadap Produksi Asam Laktat dari Glukosa oleh *Rhizopus oryzae*. *Bioteknologi*, 1(1): 19-24.
- Pranayanti, I.A., dan Aji S. The Making of Coconut Water (*Cocos nucifera* L.) Probiotic Drink with Starter *Lactobacillus casei* Shirota strain. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(2): 763-772.
- Purnavita, S., Herman Y.S., dan Sri, H. 2014. Rekayasa Produksi Asam Laktat dari Limbah Ampas Pati Aren sebagai Bahan Baku Poli Asam Laktat. *Momentum*, 10(1): 14-18.
- Qalsum, U., Anang, W.M., dan Supriadi. 2015. Analisis Kadar Karbohidrat, Lemak dan Protein dari Tepung Biji Mangga (*Mangifera indica* L) Jenis Gadung. *Jurnal Akademik Kimia*, 4(4): 168-174.
- Quthb, S. 1992. *Fi Zhilalil-Qur'an*. Beirut: Darusy-Syuruq.
- Satheesh, N., dan Prasad. 2013. Production of Fermented Coconu Water Beverages. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 6(05): 281-289.
- Seesuriyachan, P., Ampin K., Prasert, H., dan Charin, T. 2011. Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus confusus* TISTR 1498 using Coconut Water as an Alternative Carbon Source: The Effect of Peptone, Yeast Extract and Beef Extract. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 33(4): 379-387.
- Setianingsih, S. 2010. Kajian Senyawa Antimikroba Bakteri Asam Laktat Homofermentatif Isolat ASI. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- Setiarto, R.H.B., Nunuk, W., Nimas, A.R. 2017. Optimasi Produksi Fruktooligosakarida untuk Meningkatkan Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Starter Yoghurt. *Jurnal Veteriner*. 18(3): 428-440.
- Sharah, A., Rahman, K., Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Ikan Peda Kembang (*Rastrelliger sp.*). *JOM*.
- Sobrun, Y., Archana, B., Dhanjay, J., dan Daneshwar, P. 2012. Isolation of Lactic Acid Bacteria from Sugar Cane Juice and Production of Lactic Acid from Selected Improved Strains. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3: 398-407.
- Srivastava, A.K., Abhishek, D.T., Alok, J., Amrita, P., dan Nitya, S. 2014. Production, Optimization and Characterization of Lactic Acid by *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2025 from Utilizing Agro-industrial byproduct (Cane Molasses). *Journal Food Science and Technology*.

- Suharyono, AS dan Muhamad, K. 2010. Pengaruh Konsentrasi Starter *Streptococcus thermophilus* dan Lama Fermentasi Terhadap Karakteristik Minuman Laktat dari Bengkuang (*Pachyrrizus erosus*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 1(1).
- Syamsuddin, Y., Hesti, M., Friday, S., Rahmad, D. 2013. Effect of Skimmed-Milk and Starter Addition on Lactic Acid Formation in Soyghurt. *International Journal on Advance Science engineering Information Technology*, 3(4).
- Taleghani, G.T., Ghasem D.N dan Ali, A.G. 2014. Batch and Conditinous Production of Lactic Acid using *Lactobacillus bulgaricus* (ATCC 8001). *Pak. J. Biotechnology*, 11(1): 1- 12.
- Toit, M.d., Melanie, H., Gyu-Sung. C., Charles, M.A.P., Franz. 2014. *Lactic Acid Bacteria : Biodiversity and Taxonomy*, First Edition. John Wiley & Sons, Ltd. Published.
- Underwood dan Day, R.A. 2001. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- Vickroy, T.B. 1985. *Lactic Acid*. University of California, USA, in *Comprehensive Biotechnology*, Vol. 3, ed. Moo Young. New York: Pergamon Press.
- Vidra, A., Andras, J. T., dan Aron N. 2017. Lactic Acid Production from Cane Molasses. *Liquid Waste Recovery*, 2: 13-16.
- Wardani, S. K., Cahyanto, M.N., Rahayu, E.S., dan Utami, T. 2017. The Effect of Inoculum Size and Incubation Temperature on Cell Growth, Acid Production and Curd Formation during Milk Fermentation by *Lactobacillus plantarum* Dad 13. *International Food Research Journal*, 24(3): 921-92.
- Yanuar, S.E., dan Aji, S. 2015. Minuman Probiotik dari Air Kelapa Muda dengan Starter Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus casei*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(3): 909-917.

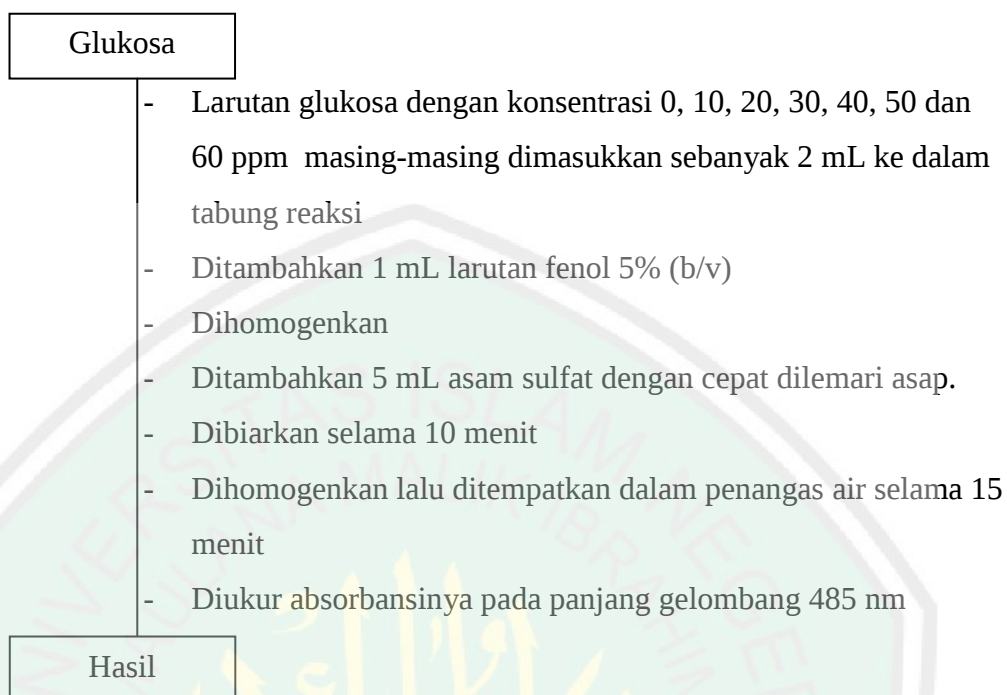
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

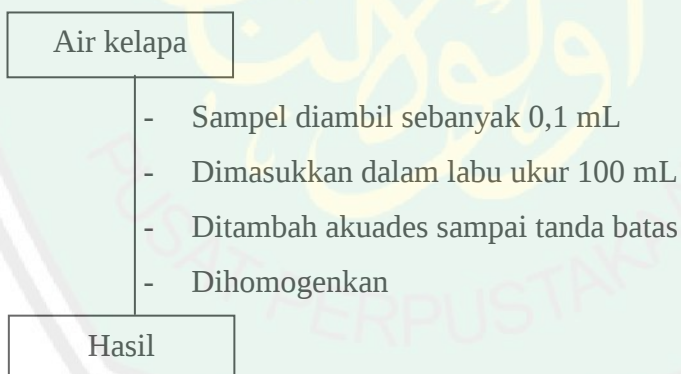


Lampiran 2. Diagram Alir

- Pembuatan Kurva Standar dengan Metode Fenol H_2SO_4 (dubois, dkk., 1965)



- Penentuan Total Gula Sampel Menggunakan Metode Fenol H_2SO_4 (Dubois, dkk., 1965)



Air kelapa 0,1%

- Sampel sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi,
- Ditambahkan 1 mL larutan fenol 5%
- Dihomogenkan
- Ditambahkan 5 mL asam sulfat pekat dengan cepat dilemari asap
- Dibiarkan selama 10 menit
- Dikocok lalu ditempatkan dalam penangas air selama 15 menit
- Diukur absorbansinya pada panjang gelombang 485 nm.

Hasil

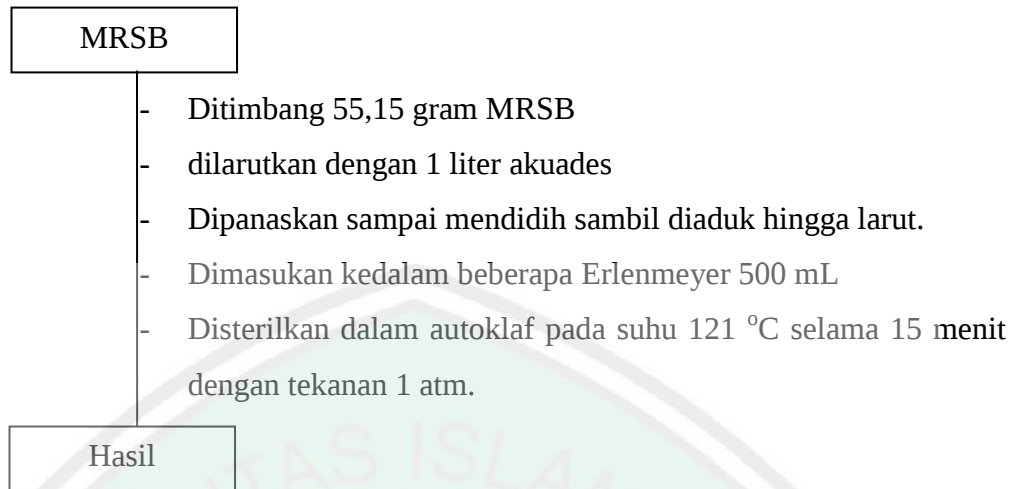
- Pembuatan Media MRSA (*deMan Rogosa and Sharpe Agar*) (Chaisu, 2013)

MRSA

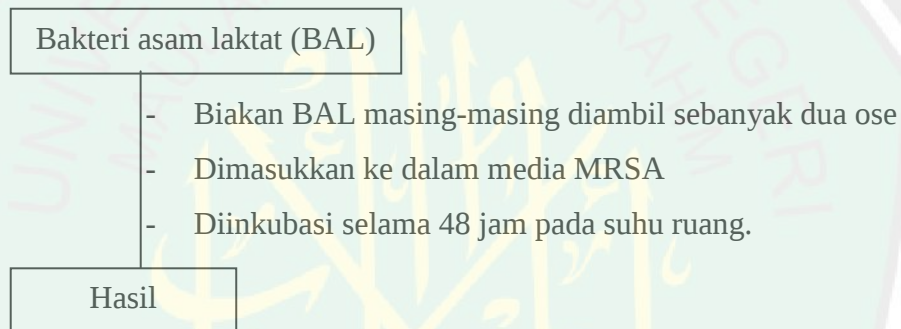
- Ditimbang 68,2 gram MRSA
- Dilarutkan dengan 1 liter akuades
- Dipanaskan sampe mendidih sambil diaduk hingga larut
- Dimasukkan dalam tabung reaksi masing-masing 4 mL
- Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm
- Didinginkan dalam tabung reaksi pada keadaan miring hingga memadat.

Hasil

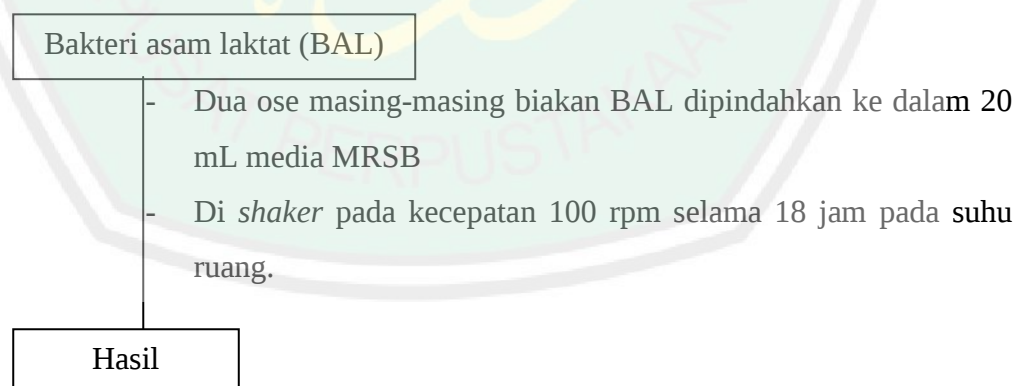
- Pembuatan Media MRSB (*deMan Rogosa and Sharpe Broth*) (Chaisu, 2013)



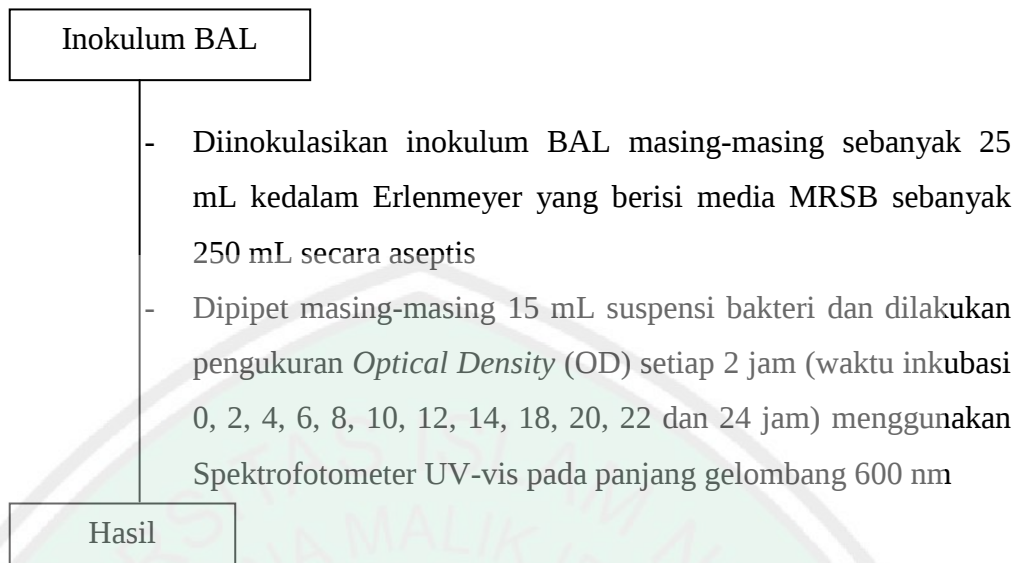
- Regenerasi Bakteri Asam Laktat



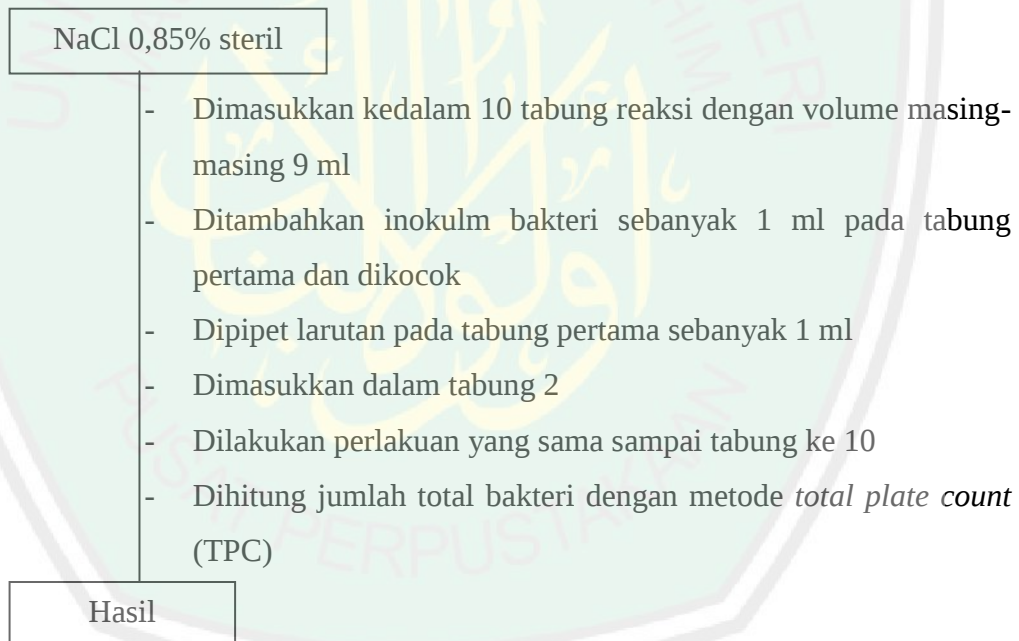
- Pembuatan Inokulum Bakteri Asam Laktat



➤ Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri (Setianingsih, 2010)



➤ Perhitungan Jumlah Sel Bakteri Asam Laktat (Harmita, dkk., 2008)



- Pengaruh Konsentrasi inokulum dan Jenis Bakteri Asam Laktat Terhadap Produksi Asam Laktat dari Air Kelapa

Air kelapa

- Diambil 100 mL dan dimasukkan Erlenmeyer
- Ditambahkan nutrien berupa *yeast extract* dan diatur pH 6
- Disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit
- Didinginkan
- Ditambahkan inokulum masing-masing bakteri asam laktat dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15%
- Di *shaker* selama waktu inkubasi 24 jam pada suhu ruang
- Cairan hasil fermentasi disentrifuge dan diambil supernatannya
- Analisis yang dilakukan meliputi analisis pH, kadar gula total dan kadar asam laktat

Hasil

- Pembakuan NaOH

$\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 N

- Diambil 25 mL $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,1 N
- Dimasukkan dalam erlenmeyer
- Ditambah indikator fenolftalein (pp) 1% sebanyak 2-3 tetes
- Dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah muda
- Titrasi dilakukan secara triplo

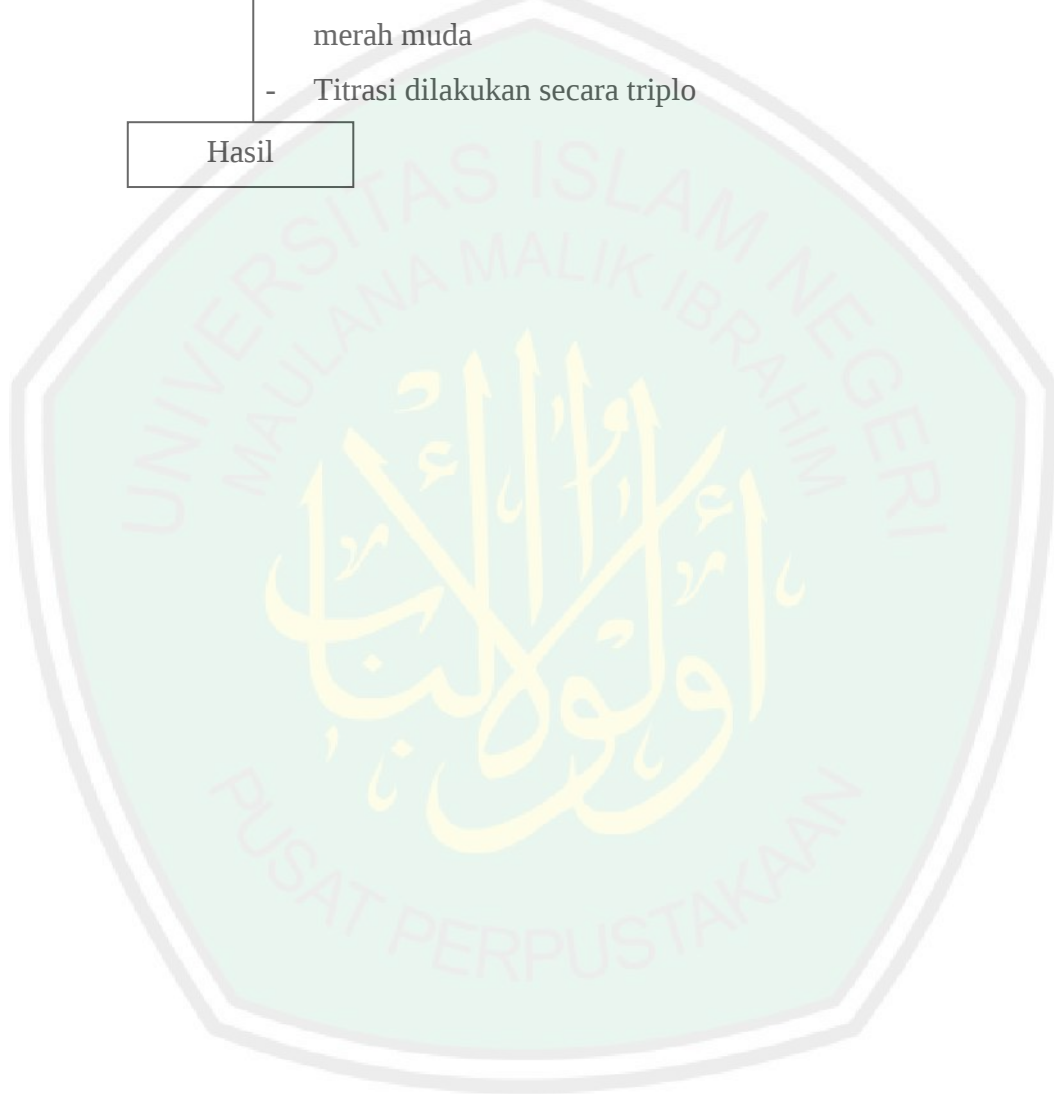
Hasil

➤ Analisis Kadar Asam Laktat dengan Metode Titrimetri (Purnavita, 2014)

Hasil Fermentasi

- Dipipet 5 mL
- Diencerkan sampai 100 mL pada masing-masing erlenmeyer
- Ditambah indikator fenolftalein (pp) 1% sebanyak 2-3 tetes
- Dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah muda
- Titrasi dilakukan secara triplo

Hasil



Lampiran 3. Pembuatan Larutan

➤ Pembuatan Larutan NaOH

$$N = M \times \text{Valensi}$$

$$M = \frac{\text{mol}}{V}$$

$$\text{mol} = \frac{m}{M_r}$$

$$N = \frac{m}{M_r \times V}$$

$$0,1 \text{ N} = \frac{m}{40 \times 0,25 \text{ L}}$$

$$0,1 \text{ N} = \frac{m}{10}$$

$$m = 0,1 \times 10$$

$$m = 1 \text{ gram}$$

Ket : m : massa NaOH

M_r : massa relative NaOH (40 g/mol)

Cara pembuatan : Ditimbang 1 gram NaOH dan dimasukkan kedalam beaker glass 100 mL kemudian ditambah aquades secukupnya sampai NaOH larut. Selanjutnya dimasukkan larutan ke dalam labu ukur 250 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan.

➤ Pembuatan Larutan $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$

$$N = M \times \text{Valensi}$$

$$M = \frac{\text{mol}}{V}$$

$$\text{mol} = \frac{m}{M_r}$$

$$N = \frac{m}{M_r \times V} \times \text{Valensi}$$

$$0,1 \text{ N} = \frac{m}{126 \times 0,1 \text{ L}} \times 2$$

$$0,1 \text{ N} = \frac{m}{12,6} \times 2$$

$$m = \frac{0,1 \times 12,6}{2}$$

$m = 0,63$ gram

Ket : m : Massa $H_2C_2O_4$

Mr : Massa relative $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ (126 g/mol)

Cara pembuatan : Ditimbang 0,63 gram $H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$ dan dimasukkan kedalam beaker glass 100 mL kemudian ditambah dengan aquades secukupnya sampai larut, selanjutnya dimasukkan larutan ke dalam labu ukur 100 mL, ditandabatkan dan dihomogenkan.

➤ **Pembuatan Konsentrasi Glukosa Standar 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm**

$$\begin{aligned} \text{Stok glukosa baku} &= \frac{m}{V} \\ &= \frac{50 \text{ mg glukosa}}{0,05 \text{ L}} \\ &= 1000 \text{ ppm} \end{aligned}$$

Cara pembuatan larutan stok 1000 ppm yaitu, ditimbang glukosa sebanyak 50 mg. kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass, selanjutnya ditambahkan dengan aquades secukupnya sampai glukosa larut. Kemudian dimasukkan kedalam labu ukur 50 mL, kemudian ditandabatkan dan dihomogenkan. Larutan ini akan digunakan sebagai larutan stok untuk pembuatan larutan glukosa standar.

Pembuatan larutan glukosa standar 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm dapat dilakukan dengan pengenceran larutan stok glukosa baku. Pembuatan larutan glukosa tersebut dapat dilakukan sebagai berikut :

a. Konsentrasi 10 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 10 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= 1 \text{ mL} \end{aligned}$$

b. Konsentrasi 20 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 20 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= 2 \text{ mL} \end{aligned}$$

c. Konsentrasi 40 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ ppm} &= 40 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL} \end{aligned}$$

$$V_1 = 4 \text{ mL}$$

d. Konsentrasi 60 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 60 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 6 \text{ mL}$$

e. Konsentrasi 80 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 80 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 8 \text{ mL}$$

f. Konsentrasi 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$V_1 \times 1000 \text{ ppm} = 20 \text{ ppm} \times 100 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL}$$

➤ **Pembuatan Larutan NaCl 0,9%**

Cara pembuatan larutan NaCl 0,9% dibuat dengan menimbang sebanyak 0,9 gram NaCl dan dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL.

➤ **Pembuatan Larutan Fenol 0,5%**

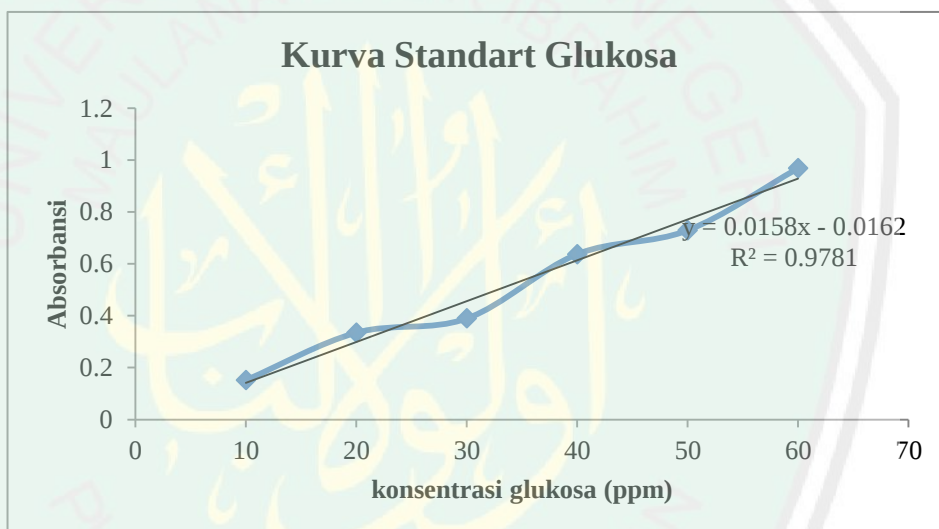
Cara pembuatan larutan fenol 5% dibuat dengan menimbang sebanyak 5 gram fenol dan dilarutkan dengan aquades sampai 100 mL.

Lampiran 4. Analisis Kadar Gula Metode Sulfat Fenol

➤ Kurva Standar Glukosa

Tabel L4.1 Data absorbansi glukosa

Konsentrasi	Absorbansi
10 ppm	0,1519
20 ppm	0,3347
30 ppm	0,3895
40 ppm	0,6372
50 ppm	0,7292
60 ppm	0,9683



➤ Kadar Gula Bahan Baku

Kadar gula bahan baku air kelapa dianalisis dengan metode sulfat fenol dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi yang diperoleh diplotkan dalam kurva standar dan diperoleh persamaan $y = 0,015x - 0,016$ dengan y merupakan absorbansi dan x adalah konsentrasi gula yang dicari. Perhitungan kadar gula bahan baku adalah sebagai berikut :

- Kadar gula dalam ppm

$$y = 0,015x - 0,016$$

$$0,015x = y + 0,016$$

$$0,015x = 0,4445 + 0,016$$

$$0,015x = 0,4605$$

$$x = \frac{0,4605}{0,015}$$

$$= 30,7 \text{ ppm}$$

- Konsentrasi analisa

$$\text{Konsentrasi analisa} = 0,1 \text{ g/100 mL}$$

$$= 1 \text{ mg/0,1 L}$$

$$= 1000 \text{ ppm}$$

- Kadar gula dalam persen (%)

$$\text{Kadar gula (\%)} = \frac{\text{Kadar gula (ppm)} \times 100\%}{\text{Konsentrasi analisa}}$$

$$= \frac{30,7 \times 100\%}{1000}$$

$$= 3,07 \%$$

Data absorbansi dan kadar gula bahan baku mentah dapat dilihat pada Tabel L4.2.

Tabel L4.2 Hasil analisis kadar gula bahan baku mentah

Perlakuan	Hasil Absorbansi			Kadar (%)			Total (%)	Rata-rata
	U1	U2	U3	U1	U2	U3		
Bahan baku	0,4445	0,3810	0,4081	3,07	2,54	2,82	8,43	2,81

➤ Kadar Gula Bahan Baku Sebelum Fermentasi

- Kadar gula dalam ppm

$$y = 0,015x - 0,016$$

$$0,015x = y + 0,016$$

$$0,015x = 0,4429 + 0,016$$

$$0,015x = 0,4589$$

$$x = \frac{0,4589}{0,015}$$

$$= 30,6 \text{ ppm}$$

- Konsentrasi analisa

$$\begin{aligned}
 \text{Konsentrasi analisa} &= 0,1 \text{ g/100 mL} \\
 &= 100 \text{ mg/0,1 L} \\
 &= 1000 \text{ ppm}
 \end{aligned}$$

- Kadar gula dalam persen (%)

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar gula (\%)} &= \frac{\text{Kadar gula (ppm)} \times 100\%}{\text{Konsentrasi analisa}} \\
 &= \frac{30,6 \times 100\%}{1000} \\
 &= 3,06 \%
 \end{aligned}$$

Data absorbansi dan kadar gula bahan baku sebelum fermentasi dapat dilihat pada Tabel L4.3.

Tabel L4.3 Hasil analisis kadar gula bahan baku sebelum fermentasi

Perlakuan	Hasil Absorbansi			Kadar (%)			Total (%)	Rata-rata
	U1	U2	U3	U1	U2	U3		
Bahan baku	0,4429	0,3479	0,3660	3,06	2,42	2,54	8,02	2,67

➤ **Kadar Gula Setelah Fermentasi**

Data absorbansi total gula setelah fermentasi dapat dilihat pada Tabel L4.4.

Tabel L4.4 Absorbansi kadar gula setelah fermentasi

Perlakuan	Absorbansi		
	Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3
B ₁ I ₁	0,2509	0,1638	0,2466
B ₁ I ₂	0,2358	0,2138	0,2837
B ₁ I ₃	0,2190	0,1690	0,1563
B ₂ I ₁	0,2895	0,1695	0,2374
B ₂ I ₂	0,2777	0,1539	0,2627
B ₂ I ₃	0,3125	0,1953	0,1857

Perolehan absorbansi selanjutnya diplotkan pada kurva standar glukosa untuk mencari kadar total glukosa setelah fermentasi :

- Kadar gula dalam ppm

$$y = 0,015x - 0,016$$

$$0,015x = y + 0,016$$

$$0,015x = 0,2509 + 0,016$$

$$0,015x = 0,2669$$

$$x = \frac{0,2669}{0,015}$$

$$= 17,79 \text{ ppm}$$

- Konsentrasi analisa

$$\text{Konsentrasi analisa} = 0,2 \text{ g}/100 \text{ mL}$$

$$= 200 \text{ mg}/0,1 \text{ L}$$

$$= 2000 \text{ ppm}$$

- Kadar gula dalam persen (%)

$$\text{Kadar gula (\%)} = \frac{\text{Kadar gula (ppm)} \times 100\%}{\text{Konsentrasi analisa}}$$

$$= \frac{17,79 \times 100\%}{2000}$$

$$= 0,88 \%$$

Kadar total gula setelah fermentasi dapat dilihat pada Tabel L4.5.

Tabel L4.5 Total kadar gula setelah fermentasi

Perlakuan	Kadar Gula (%)			Total (%)	Rata-rata (%)
	U1	U2	U3		
B ₁ I ₁	0,88	0,59	0,87	2,34	0,78
B ₁ I ₂	0,83	0,76	0,99	2,58	0,86
B ₁ I ₃	0,78	0,61	0,57	1,96	0,65
B ₂ I ₁	1,01	0,61	0,84	2,46	0,82
B ₂ I ₂	0,97	0,56	0,92	2,45	0,81
B ₂ I ₃	1,09	0,70	0,67	2,46	0,82

➤ Kadar Gula Terpakai pada Proses Fermentasi

Kadar gula terpakai setelah proses fermentasi dapat diketahui dari hasil pengurangan kadar gula sebelum fermentasi dengan kadar gula setelah fermentasi.

Hasil kadar gula yang terpakai pada proses fermentasi dapat dilihat pada Tabel L4.6.

$$\begin{aligned}\text{Gula terpakai (\%)} &= \text{kadar gula awal (\%)} - \text{kadar gula setelah fermentasi (\%)} \\ &= 3,06\% - 0,88\% \\ &= 2,18\%\end{aligned}$$

Tabel L4.6 Kadar gula terpakai pada proses fermentasi

Perlakuan	Kadar Gula (%)			Total (%)	Rata-rata (%)
	U1	U2	U3		
B₁I₁	2,18	1,83	1,67	5,68	1,89
B₁I₂	2,23	1,66	1,55	5,44	1,81
B₁I₃	2,28	1,81	1,97	6,06	2,02
B₂I₁	2,05	1,81	1,70	5,56	1,85
B₂I₂	2,09	1,86	1,62	5,57	1,86
B₂I₃	1,97	1,72	1,87	5,56	1,85

Lampiran 5. Kurva Pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp.

Pertumbuhan bakteri diamati dengan cara memipet 15 mL suspensi bakteri dan dilakukan pengukuran *Optical Density* (OD) berdasarkan nilai absorbansi setiap 2 jam (waktu inkubasi 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 18, 20, 22 dan 24 jam). Data hasil absorbansi kurva pertumbuhan pada media air kelapa dan media MRSB berturut-turut ditunjukkan pada Tabel L5.1 dan L5.2. Selain diukur nilai absorbansinya, pada kurva pertumbuhan juga dianalisis nilai pH dan kadar asam laktatnya. Penurunan pH media MRSB selama pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp disajikan pada Tabel L5.3. Hasil analisis kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. pada media air kelapa ditunjukkan pada Tabel L5.4 dan L5.5.

Tabel L5.1 Absorbansi kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. pada media air kelapa

Jam	Absorbansi	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Streptococcus</i> sp.
2	0,5435	0,5216
4	1,3569	1,5271
6	1,9058	1,9097
8	1,9862	2,0214
10	2,0821	2,0491
12	2,1011	2,0739
14	2,1350	2,0713
16	2,1158	2,0540
18	2,1383	2,0717
20	1,9720	2,0454
22	1,9642	1,9193
24	1,9602	1,9105

Tabel L5.2 Absorbansi kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* dan *Streptococcus* sp. pada media MRSB

Jam	Absorbansi	
	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Streptococcus</i> sp.
2	0,1291	0,2923
4	0,2195	0,7473
6	0,4195	1,6143
8	0,8781	2,1195
10	1,3608	2,2757
12	1,7920	2,2740
14	1,9454	2,2900
16	2,0067	2,2489
18	2,0211	2,2552
20	2,0834	2,1964
22	2,1351	2,1592
24	2,0920	2,1783

Tabel L5.3 Hasil analisa kurva pertumbuhan *Leuconostoc mesenteroides* pada media air kelapa

Jam	pH	Kadar Asam Laktat (%)
2	5,5	0,101
4	5,0	0,157
6	4,4	0,292
8	4,2	0,394
10	4,0	0,472
12	4,0	0,529
14	3,9	0,563
16	3,9	0,608
18	3,9	0,619
20	3,8	0,653
22	3,8	0,783
24	3,8	0,664

Tabel L5.4 Hasil analisa kurva pertumbuhan *Streptococcus* sp. pada media air kelapa

Jam	pH	Kadar Asam Laktat (%)
2	5,6	0,123
4	4,9	0,225
6	4,4	0,394
8	4,2	0,540
10	4,1	0,653
12	4,0	0,698
14	4,0	0,754
16	3,9	0,788
18	3,9	0,810
20	3,9	0,844
22	3,9	0,867
24	3,8	0,889

Lampiran 6. Analisis pH dan Kadar Asam Laktat

➤ Analisis pH Air Kelapa Setelah Fermentasi

Nilai pH diukur dengan menggunakan alat pH meter. Nilai pH setelah fermentasi ditunjukkan pada Tabel L6.1.

Tabel L6.1 pH setelah fermentasi

Perlakuan	pH			Total	Rata-rata
	U1	U2	U3		
B ₁ I ₁	3,9	3,9	4,1	11,9	3,96
B ₁ I ₂	3,8	3,9	4,1	11,8	3,93
B ₁ I ₃	3,7	3,9	4,0	11,6	3,86
B ₂ I ₁	3,8	3,8	4,0	11,6	3,86
B ₂ I ₂	3,8	3,8	4,0	11,6	3,86
B ₂ I ₃	3,8	3,8	4,0	11,6	3,86

➤ Analisis Kadar Asam Laktat

Pengukuran kadar asam laktat dilakukan dengan metode titrimetri. Sebanyak 5 mL sampel diencerkan sampai 100 mL kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N dan ditambahkan 2-3 tetes indikator pp. Dari hasil titrasi, kadar asam laktat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar asam laktat \%} = \frac{V \times N \times 90,08 \times fp \times 100\%}{\text{Volume sampel} \times 1000}$$

Keterangan : V : Volume NaOH

N : Normalitas NaOH

Ulangan 1 : 0,097 N

Ulangan 2 & 3 : 0,102 N

Hasil titrasi ditunjukkan pada Tabel L6.2 dan hasil perhitungan kadar asam laktat ditunjukkan pada Tabel L6.3.

Tabel L6.2 Data hasil titrasi

Perlakuan	Ulangan 1			Ulangan 2			Ulangan 3		
	Plo 1	Plo 2	Plo 3	Plo 1	Plo 2	Plo 3	Plo 1	Plo 2	Plo 3
B₁I₁	4,9	4,9	4,9	4,3	4,2	4,2	3,6	3,6	3,6
B₁I₂	5,1	5,1	5	4,4	4,4	4,4	3,5	3,4	3,3
B₁I₃	5,2	5,1	5,1	5	4,8	4,8	3,7	3,6	3,8
B₂I₁	4,7	4,7	4,8	5,1	5	5	3,5	3,7	3,5
B₂I₂	4,9	4,8	4,8	4,2	4,2	4,2	3,8	3,7	3,7
B₂I₃	5	5,2	4,9	4,4	4,3	4,4	3,5	3,5	3,5

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar asam laktat \%} &= \frac{V \times N \times 90 \times fp \times 100\%}{\text{Volume sampel} \times 1000} \\
 &= \frac{4,9 \times 0,097 \times 90,08 \times 20 \times 100\%}{100 \text{ ml} \times 1000} \\
 &= \frac{85,56}{100000} \\
 &= 0,856
 \end{aligned}$$

Tabel L6.3 Kadar asam laktat

Perlakuan	Kadar Asam Laktat (%)			Total (%)	Rata-rata (%)
	U1	U2	U3		
B₁I₁	0,856	0,845	0,661	2,362	0,787
B₁I₂	0,884	0,808	0,624	2,316	0,772
B₁I₃	0,896	0,893	0,679	2,468	0,822
B₂I₁	0,831	0,924	0,654	2,409	0,803
B₂I₂	0,844	0,831	0,685	2,360	0,786
B₂I₃	0,879	0,871	0,667	2,417	0,805

Lampiran 7. Perhitungan Jumlah Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Metode ini dilakukan dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh pada media agar. Hasil perhitungan ditunjukkan pada Tabel L7.1.

Tabel L7.1 Hasil Perhitungan Jumlah Bakteri

Perlakuan	Jumlah Bakteri (CFU/mL)			Total (CFU/mL)	Rata-rata (CFU/mL)
	Ulangan I	Ulangan 2	Ulangan 3		
B₁I₁	$1,34 \times 10^{13}$	$2,17 \times 10^8$	$1,92 \times 10^8$	$1,34 \times 10^{13}$	$4,46 \times 10^{12}$
B₁I₂	$1,63 \times 10^{11}$	$1,63 \times 10^{10}$	$2,28 \times 10^8$	$1,79 \times 10^{11}$	$5,90 \times 10^{10}$
B₁I₃	$2,00 \times 10^5$	$1,78 \times 10^9$	$9,70 \times 10^8$	$2,75 \times 10^9$	$9,16 \times 10^8$
B₂I₁	$1,90 \times 10^9$	$5,67 \times 10^9$	$7,80 \times 10^8$	$8,35 \times 10^9$	$2,78 \times 10^9$
B₂I₂	$1,77 \times 10^{11}$	$1,22 \times 10^8$	$2,49 \times 10^9$	$1,79 \times 10^{11}$	$5,98 \times 10^{10}$
B₂I₃	$3,70 \times 10^9$	$4,82 \times 10^9$	$1,90 \times 10^9$	$1,04 \times 10^{10}$	$3,47 \times 10^9$

Lampiran 8. Perhitungan *Yield* Asam Laktat

Yield asam laktat diperoleh dari perbandingan asam laktat yang dihasilkan dengan konsumsi gula. Hasil perhitungan nilai *yield* disajikan pada Tabel L8.1.

$$\begin{aligned}
 Y_{p/s} &= \frac{\text{Produk asam laktat}}{\text{Konsumsi glukosa sebagai total gula}} \times 100\% \\
 &= \frac{0,856\%}{2,18\%} \times 100\% \\
 &= 39,26\%
 \end{aligned}$$

Tabel L8.1 *Yield* asam laktat

Perlakuan	<i>Yield</i> (%)			Total (%)	Rata-rata (%)
	U1	U2	U3		
B₁I₁	39,26	46,17	39,58	125,01	41,67
B₁I₂	39,64	48,67	40,25	128,56	42,85
B₁I₃	39,29	49,33	34,46	123,08	41,02
B₂I₁	40,53	51,04	38,47	130,04	43,34
B₂I₂	40,38	44,67	42,28	127,33	42,44
B₂I₃	44,61	50,63	35,66	130,90	43,63

Lampiran 9. Hasil Analisis Uji Statistik

➤ Pengaruh Jenis Bakteri dan Konsentrasi Inokulum Terhadap Kadar Asam Laktat

Descriptive Statistics

Dependent Variable: kadar asam laktat

jenis bakteri	konsentrasi inokulum	Mean	Std. Deviation	N
streptococcus sp.	5%	.78733	.109546	3
	10%	.75867	.118006	3
	15%	.82267	.124428	3
	Total	.78956	.105465	9
leu. mesenteroides	5%	.80300	.137160	3
	10%	.78667	.088286	3
	15%	.80567	.120155	3
	Total	.79844	.101688	9
Total	5%	.79517	.111351	6
	10%	.77267	.094462	6
	15%	.81417	.109793	6
	Total	.79400	.100605	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: kadar asam laktat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.007 ^a	5	.001	.104	.989
Intercept	11.348	1	11.348	825.772	.000
jenis_bakteri	.000	1	.000	.026	.875
Konsentrasi_inokulum	.005	2	.003	.188	.831
jenis_bakteri *	.002	2	.001	.059	.943
Konsentrasi_inokulum					
Error	.165	12	.014		
Total	11.520	18			
Corrected Total	.172	17			

a. R Squared = .042 (Adjusted R Squared = -.358)

➤ **Pengaruh Jenis Bakteri dan Konsentrasi Inokulum Terhadap Yield Asam Laktat**

Descriptive Statistics

Dependent Variable: Yield Asam Laktat

Jenis Bakteri	Konsentrasi Inokulum	Mean	Std. Deviation	N
Streptococcus	5%	41.6700	3.90040	3
	10%	42.8533	5.04661	3
	15%	41.0267	7.58559	3
	Total	41.8500	5.01991	9
leuconostoc mesenteroides	5%	43.3467	6.74177	3
	10%	42.4433	2.14966	3
	15%	43.6333	7.53264	3
	Total	43.1411	5.19544	9
Total	5%	42.5083	5.01091	6
	10%	42.6483	3.47651	6
	15%	42.3300	6.91022	6
	Total	42.4956	5.00022	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Yield Asam Laktat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	14.967 ^a	5	2.993	.088	.993
Intercept	32505.700	1	32505.700	951.221	.000
Jenis_bakteri	7.501	1	7.501	.220	.648
Konsentrasi_inokulum	.305	2	.153	.004	.996
Jenis_bakteri *	7.160	2	3.580	.105	.901
Konsentrasi_inokulum					
Error	410.071	12	34.173		
Total	32930.738	18			
Corrected Total	425.038	17			

a. R Squared = .035 (Adjusted R Squared = -.367)

➤ **Viabilitas Bakteri Asam Laktat dalam Media Air Kelapa**

Descriptive Statistics

Dependent Variable: viabilitas

jenis bakteri	konsentrasi inokulum	Mean	Std. Deviation	N
streptococcus sp.	5%	4466803000000.00	7736375539021.035	3
	10%	59842666666.67	89697568870.808	3
	15%	916733333.33	891094839.696	3
	Total	1509187466666.67	4459372400480.578	9
Leuconostoc mesenteroides	5%	2783333333.33	2561880819.502	3
	10%	59870666666.67	101443887944.683	3
	15%	3473333333.33	1473137241.853	3
	Total	22042444444.44	58137004642.291	9
Total	5%	2234793166666.67	5469812308746.486	6
	10%	59856666666.67	85642318629.674	6
	15%	2195033333.33	1773847345.931	6
	Total	765614955555.56	3153590468832.172	18

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: viabilitas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4932755331797034 6000000000.000 ^a	5	9865510663594069 000000000.000	.989	.464
Intercept	1055099268306603 8000000000.000	1	1055099268306603 8000000000.000	1.057	.324
jenis_bakteri	9952201427041503 000000000.000	1	9952201427041503 000000000.000	.997	.338
konsentrasi_inokulum	1943633613590880 0000000000.000	2	9718168067954400 000000000.000	.974	.406
jenis_bakteri * konsentrasi_inokulum	1993901575502001 0000000000.000	2	9969507877510004 000000000.000	.999	.397
Error	1197397050488847 00000000000.000	12	9978308754073726 000000000.000		
Total	1796182510499210 20000000000.000	18			
Corrected Total	1690672583668550 50000000000.000	17			

a. R Squared = .292 (Adjusted R Squared = -.003)