

# Sintesis Asam Laktat Dari Kulit Nangka Dengan Proses *Simultaneous Saccharification And Fermentation* (SSF)

Tiara Anggarani Sunil Wahidah\*, Latifah Fitri Handayani, Sri Redjeki

Jurusan Teknik Kimia, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur, Surabaya

\*Koresponden email: 22031010106@student.upnjatim.ac.id

Diterima: 24 Januari 2026

Disetujui: 30 Januari 2026

## Abstract

Jackfruit peel is a lignocellulosic biomass waste with considerable potential as an alternative raw material for lactic acid production through bioconversion, as it contains lignocellulose that can be converted into simple sugars. This study aims to synthesize lactic acid from jackfruit peel and to evaluate the effects of substrate mass and *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) duration on lactic acid concentration in order to determine the optimum process conditions. The SSF process was conducted using *Aspergillus niger* as the saccharification agent and *Lactobacillus plantarum* as the fermentation agent following a delignification pretreatment. Substrate mass variations of 3, 5, 7, 9, and 11 grams were applied with SSF durations of 12, 24, 36, 48, and 72 hours. Lactic acid concentration was determined using acid–base titration, while pH changes were monitored throughout the process. Statistical analysis using two-way ANOVA indicated that both substrate mass and SSF duration significantly affected lactic acid production, with  $p$ -values  $< 0.05$ . The highest lactic acid concentration of 2.10% was achieved at a substrate mass of 5 grams and an SSF duration of 48 hours, accompanied by a decrease in pH, indicating enhanced fermentation activity. These findings demonstrate that SSF is an effective approach for lactic acid production from jackfruit peel and has strong potential for sustainable and value-added utilization of biomass waste.

**Keywords:** jackfruit peel, lactic acid, simultaneous saccharification and fermentation, lignocellulosic biomass

## Abstrak

Kulit nangka merupakan limbah biomassa yang berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan baku alternatif produksi asam laktat melalui proses biokonversi, karena mengandung lignoselulosa yang berpotensi dikonversi menjadi gula sederhana. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis asam laktat dari kulit nangka serta menganalisis pengaruh massa substrat dan lama waktu *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) terhadap kadar asam laktat guna menentukan kondisi terbaik proses. Proses SSF dilakukan menggunakan *Aspergillus niger* sebagai agen sakarifikasi dan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen fermentasi setelah tahap delignifikasi. Variasi massa substrat yang digunakan adalah 3, 5, 7, 9, dan 11 gram dengan lama SSF 12, 24, 36, 48, dan 72 jam. Kadar asam laktat dianalisis menggunakan metode titrasi asam–basa, sedangkan pH diamati selama proses berlangsung. Analisis statistik menggunakan ANOVA dua arah menunjukkan bahwa massa substrat dan lama waktu SSF berpengaruh signifikan terhadap kadar asam laktat dengan nilai  $p$ -value  $< 0,05$ . Kadar asam laktat tertinggi sebesar 2,10% diperoleh pada massa substrat 5 gram dengan waktu SSF 48 jam, disertai penurunan pH yang mengindikasikan peningkatan aktivitas fermentasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa proses SSF efektif dalam menghasilkan asam laktat dari kulit nangka dan berpotensi dikembangkan sebagai metode pemanfaatan limbah biomassa yang bernilai ekonomis dan ramah lingkungan.

**Kata Kunci:** kulit nangka, asam laktat, sakarifikasi dan fermentasi simultan, biomassa lignoselulosa

## 1. Pendahuluan

Tingginya tingkat konsumsi buah nangka di Indonesia berkontribusi terhadap meningkatnya jumlah limbah organik yang dihasilkan. Sekitar 15–20% bagian buah yang dimanfaatkan sebagai bahan pangan, sedangkan sisanya, termasuk kulit nangka, dibuang dan berpotensi menimbulkan permasalahan lingkungan [1]. Padahal, kulit buah nangka memiliki kandungan selulosa yang cukup tinggi, yaitu sebesar 38,69% [2], sehingga berpotensi besar untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku fermentasi asam laktat. Beberapa penelitian terdahulu menunjukkan bahwa biomassa lignoselulosa dapat dikonversi menjadi asam laktat melalui tahapan sakarifikasi selulosa menjadi gula sederhana yang selanjutnya difermentasi oleh bakteri asam laktat [3]. Asam laktat memiliki karakteristik bersifat asam sehingga dapat dimanfaatkan sebagai

pengawet alami dalam industri pangan karena kemampuannya menurunkan pH [4]. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar asam laktat yang dihasilkan, maka nilai pH akan semakin rendah [5].

Produksi asam laktat dari bahan lignoselulosa umumnya dilakukan melalui proses sakarifikasi dan fermentasi secara terpisah (*Separate Hydrolysis and Fermentation*), namun metode ini memerlukan waktu proses yang relatif lama serta berpotensi mengalami penurunan efisiensi akibat inhibisi produk terhadap aktivitas enzim [6]. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan metode *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)*, yaitu proses sakarifikasi dan fermentasi yang berlangsung secara bersamaan dalam satu tahapan. Namun, pengembangan proses SSF dengan memanfaatkan kombinasi mikroorganisme sakarolitik dan bakteri asam laktat secara simultan masih relatif terbatas. Padahal, metode ini dilaporkan lebih efisien karena mampu menekan waktu proses, meningkatkan efisiensi operasional, serta mengurangi risiko kontaminasi [3]. Penggunaan *Aspergillus niger* sebagai agen sakarifikasi dipilih karena memiliki kemampuan degradasi selulosa yang baik dan toleransi terhadap kondisi asam [7] [8], sedangkan *Lactobacillus plantarum* dipilih karena termasuk bakteri homofermentatif yang mampu mengkonversi hingga 90% glukosa menjadi asam laktat lebih tinggi dibandingkan bakteri heterofermentatif yang hanya memanfaatkan kurang dari 90% gula substrat dan menghasilkan produk samping lain [9].

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi terbaik produksi asam laktat dari limbah kulit buah nangka melalui proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* menggunakan *Aspergillus niger* dan *Lactobacillus plantarum*, dengan mengkaji pengaruh variasi massa substrat dan lama waktu SSF terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan serta hubungannya dengan perubahan pH selama proses berlangsung.

## 2. Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan gelas laboratorium, oven pengering, blender, ayakan, neraca analitik, autoklaf, inkubator, hot plate, buret, dan pH meter yang tersedia di Laboratorium Teknik Kimia, Fakultas Teknik dan Sains, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur. Bahan yang digunakan meliputi limbah kulit buah nangka sebagai substrat yang diperoleh dari penjual nangka goreng di Jalan Dharmahusada, Kelurahan Mojo, Kecamatan Tambaksari, Surabaya, Jawa Timur. Natrium hidroksida (NaOH) yang digunakan pada proses delignifikasi diperoleh dari UD. Nirwana Abadi, Jalan Wonorejo Permai Timur Blok EE, Kecamatan Rungkut, Surabaya, Jawa Timur. Jamur *Aspergillus niger* sebagai agen sakarifikasi pada proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)* diperoleh melalui platform Vie Lab E-Commerce, sedangkan bakteri *Lactobacillus plantarum* sebagai agen fermentasi pada proses SSF diperoleh melalui platform Agavi Lab E-Commerce.

### Proses Delignifikasi Kulit Buah Nangka

Kulit buah Nangka dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, kemudian dipotong kecil lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu  $\pm 60^{\circ}\text{C}$  hingga kadar air berkurang, dan dihaluskan menggunakan blender. Proses delignifikasi dilakukan dengan merendam serbuk kulit nangka dalam larutan NaOH 10% (b/v) dengan perbandingan padat-cair antara serbuk kulit nangka dengan larutan NaOH adalah 1:10 (b/v), kemudian dipanaskan pada suhu  $80^{\circ}\text{C}$  selama 1 jam 36 menit untuk memutus lignin yang terkandung pada lignoselulosa dalam biomassa. Setelah proses delignifikasi selesai, residu dicuci menggunakan aquadest hingga mencapai pH netral, kemudian dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit dan siap digunakan sebagai substrat untuk bahan selanjutnya.

### Analisis Bahan Baku Kulit Buah Nangka

Analisis bahan baku dilakukan di Laboratorium Gizi, Universitas Airlangga untuk memastikan potensi kulit buah nangka sebagai substrat fermentasi. Analisis ini meliputi pengamatan karakteristik fisik berupa kadar kandungan selulosa dan lignin dalam bahan baku kulit buah nangka sebelum dan sesudah proses delignifikasi serta identifikasi keberadaan lignoselulosa sebagai sumber gula yang akan dikonversi selama proses sakarifikasi dan fermentasi.

### Inokulasi Peremajaan dan Karakterisasi Morfologi Jamur *Aspergillus Niger*

Jamur *Aspergillus niger* digunakan sebagai agen sakarifikasi untuk menghidrolisis selulosa pada kulit buah nangka menjadi gula sederhana. Inokulasi jamur ini dilakukan pada media agar miring, diawali dengan pembuatan media pertumbuhan PDA (*Potato Dextrose Agar*) yaitu bubuk PDA sebanyak 3 gram dilarutkan dalam 100 ml aquadest lalu sterilisasi pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit lalu tuang hingga 1/3 tabung reaksi dan tunggu hingga memadat (solidifikasi), inokulasi jamur dengan kuantitas isolat sebanyak

1 ose pada tiap permukaan media agar miring untuk selanjutnya dilakukan peremajaan isolat pada inkubator selama 120 jam dengan suhu dijaga 37°C sebagai tahap awal SSF untuk mendukung aktivitas enzimatik jamur dalam menghasilkan gula reduksi. Karakterisasi jamur *Aspergillus Niger* yang dihasilkan selanjutnya dilakukan analisis secara makroskopis dan mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 100× untuk memastikan pencegahan kontaminasi dan kesalahan penggunaan spesies.

### **Inokulasi Peremajaan dan Karakterisasi Morfologi Bakteri *Lactobacillus Plantarum***

Bakteri *Lactobacillus plantarum* digunakan sebagai agen fermentasi untuk mengonversi gula sederhana menjadi asam laktat. Inokulasi bakteri ini dilakukan pada media cair MRSB (*deMan Rogosa Sharpe Broth*) dengan cara pembuatan media terlebih dahulu yaitu 20,91 gram bubuk MRSB hingga larut dalam 380 ml aquadest, lalu sterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit untuk kemudian dituang pada tabung reaksi masing-masing 10 ml. Inokulasi bakteri dengan kuantitas isolat sebanyak 2 ose pada tiap tabung reaksi berisi media cair tersebut lalu inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Seluruh proses dilakukan dalam kondisi steril untuk mencegah terjadinya kontaminasi mikroorganisme lain.

### **Proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF)**

Proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dilakukan dengan menggabungkan tahap sakarifikasi dan fermentasi dalam satu sistem reaksi. Variasi massa substrat kulit nangka yang digunakan adalah 3, 5, 7, 9, dan 11 gram, sedangkan variasi lama waktu SSF adalah 12, 24, 36, 48, dan 72 jam. Proses SSF dilakukan dengan cara pencampuran antara substrat kulit nangka sesuai variabel dengan aquadest hingga 75 ml lalu cek pH dan atur pH awal media SSF hingga bernilai 6 yang merupakan pH optimum untuk *Aspergillus niger* dan *Lactobacillus plantarum* dengan menggunakan HCl sebagai pengatur asam dan NaOH sebagai pengatur basa.

Lalu langkah kedua pada proses SSF adalah preparasi agen sakarifikasi dan fermentasi, yaitu *Aspergillus niger* sebagai agen sakarifikasi dan *Lactobacillus plantarum* sebagai agen fermentasi, pertama *Aspergillus niger* yang telah ditumbuhkan di agar miring disuspensikan menggunakan aquadest steril ke dalam erlenmeyer 25 ml hingga batas tera. Kemudian ukur suspensi *Aspergillus niger* yang akan digunakan per botol fermentor sebanyak 10% dari media SSF yaitu sebanyak 10 ml. Sedangkan pada *Lactobacillus plantarum* ukur sebanyak 15% dari media SSF yaitu 15 ml.

Langkah ketiga adalah larutan filtrat berupa larutan substrat kulit nangka sebagai bentuk fermentasi media cair dituangkan masing-masing mikroba yaitu *Aspergillus niger* sebanyak 10 ml dan *Lactobacillus plantarum* sebanyak 15 ml kedalam masing-masing botol fermentor dan lakukan pengadukan. Langkah keempat, media SSF sebanyak 25 botol tersebut ditutup dengan kapas dan aluminium foil yang diberi lubang seukuran jarum untuk menyesuaikan kondisi fermentor yang mendukung lingkungan anaerob fakultatif, lalu diletakkan dalam inkubator untuk diatur suhunya pada 37°C selama 3 hari dengan variasi lama fermentasi yaitu 12 jam, 24 jam, 36 jam, 48 jam, 72 jam dan setiap sampel dilakukan pengadukan manual minimal 2 kali dan bertahap diaduk setiap dilakukan pengambilan sampel secara steril.

### **Analisis Kandungan Kadar Asam Laktat dan pH**

Setiap sampel variasi tersebut dilakukan proses sterilisasi lalu dilakukan pengukuran dan pengecekan pH dengan menggunakan pH meter untuk selanjutnya dilakukan uji kadar asam laktat dengan proses titrasi. Sterilisasi pada media SSF dilakukan dengan cara pemanasan pada suhu 80°C, kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Setelah itu, kadar asam laktat dari setiap variabel hasil proses SSF dianalisis menggunakan metode titrasi asam-basa. Analisis dilakukan dengan mengambil filtrat hasil SSF yang telah disaring sebanyak 5 mL ke dalam labu ukur, kemudian diencerkan hingga mencapai volume 100 mL. Selanjutnya, sebanyak 10 mL dari larutan hasil pengenceran dimasukkan ke dalam masing-masing 3 erlenmeyer setiap variabel dan ditambahkan indikator fenoltalein sebanyak dua tetes. Larutan tersebut kemudian dititrasi menggunakan NaOH 0,1 N hingga mencapai titik ekuivalen yang ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda. Perhitungan kadar asam laktat dilakukan menggunakan rumus berikut [10]:

$$\% \text{ kadar asam laktat} = \frac{\text{ml NaOH} \times N \text{ NaOH} \times fp \times 90}{\text{vlume sampel (ml)} \times 1000} \times 100$$

Keterangan Rumus :

ml NaOH = Volume titran

N NaOH = Konsentrasi NaOH

Fp = Faktor pengenceran

## Analisis Signifikansi Massa Substrat dan Lama Waktu Proses SSF

Data kadar asam laktat yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan metode ANOVA dua arah untuk mengetahui pengaruh massa substrat dan lama waktu SSF terhadap produksi asam laktat. Analisis ini digunakan untuk menentukan signifikansi pengaruh kedua variabel serta kondisi terbaik dalam proses sintesis asam laktat dari kulit buah nangka.

### 3. Hasil dan Pembahasan

#### Analisis Bahan Baku

Karakteristik bahan baku setelah delignifikasi, khususnya kandungan selulosa dan lignin, perlu diketahui sebelum digunakan pada proses SSF. Kandungan selulosa dan lignin dianalisis menggunakan *Chesson-Datta Method* melalui pengujian di Laboratorium Gizi Universitas Airlangga. Hasil analisis tersebut disajikan pada **Tabel 1**.

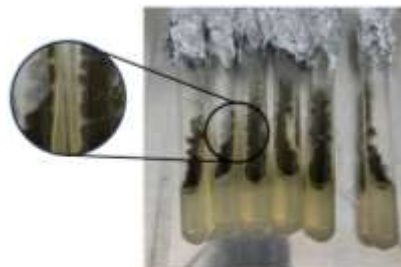
**Tabel 1.** Hasil analisis kadar selulosa dan lignin dari hasil delignifikasi kulit nangka

Senyawa	Jumlah	Satuan
Selulosa setelah Delignifikasi	49,67	%
Lignin sebelum Delignifikasi	12,48	%
Lignin setelah Delignifikasi	11,69	%

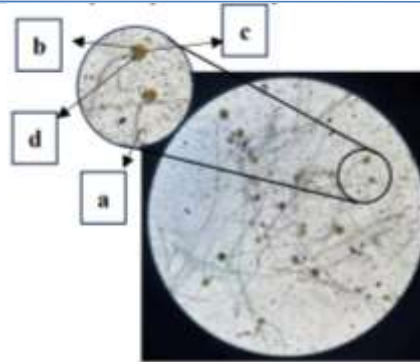
Kulit nangka hasil proses delignifikasi digunakan sebagai substrat pada proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) dan dianalisis untuk mengetahui kadar selulosa. Berdasarkan **Tabel 1**, kadar selulosa setelah delignifikasi sebesar 49,67%, yang menunjukkan ketersediaan selulosa yang tinggi sebagai sumber substrat untuk proses SSF. Nilai ini sebanding dengan hasil penelitian [11] sebesar 50,13% dan lebih tinggi dibandingkan penelitian [12] sebesar 38,69%, yang dipengaruhi oleh kondisi proses delignifikasi. Menurut [13] penggunaan NaOH 10% lebih efektif dibandingkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dalam memutus ikatan lignin sehingga meningkatkan keterbukaan struktur selulosa. Kadar lignin sebelum dan setelah delignifikasi masing-masing sebesar 12,48% dan 11,69%, yang menunjukkan bahwa proses delignifikasi tidak menghilangkan lignin, melainkan memisahkannya dari struktur lignoselulosa. Hal ini sesuai dengan penelitian Kardam 2025 yang melaporkan kandungan lignin kulit nangka berada pada rentang 11–25% [14], serta dipengaruhi oleh karakteristik bahan baku seperti jenis biomassa, umur tanaman, dan lokasi tumbuh [15]

#### Analisis Morfologi Hasil Peremajaan Isolat *Aspergillus niger*

Berdasarkan **Gambar 1** hasil peremajaan isolat kultur murni *Aspergillus niger* menunjukkan karakteristik morfologi secara makroskopis. Koloni *Aspergillus niger* pada media Potato Dextrose Agar (PDA) berwarna hitam dengan persebaran koloni yang merata pada permukaan media, berbentuk bulat dengan tepi koloni rata, serta terdapat lapisan berwarna putih kekuningan pada bagian bawah koloni. Pada hari ke-5 peremajaan, pertumbuhan koloni tampak lebih banyak dan menyebar dibandingkan hari pertama. Hasil pengamatan ini sesuai dengan penelitian [16] yang melaporkan bahwa koloni *Aspergillus niger* pada media PDA mengalami perubahan warna dari putih menjadi hitam seiring bertambahnya usia koloni, dengan bentuk koloni bulat atau semi bulat serta lapisan bawah berwarna putih hingga kuning.



**Gambar 1** Pengamatan morfologi makroskopis jamur *Aspergillus niger* pada media PDA (Potato Dextrose Agar)



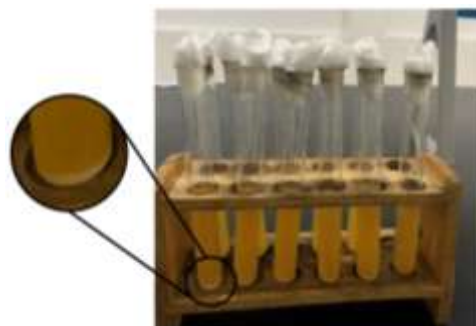
**Gambar 2.** Pengamatan morfologi mikroskopis jamur *Aspergillus niger* pada media PDA (Potato Dextrose Agar) menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 100×

Berdasarkan **Gambar 2** hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* memiliki kepala konidia berbentuk bulat dengan warna hitam hingga coklat. Konidiofor tampak berbentuk silinder panjang, halus, dan tidak berwarna, dengan vesikel berbentuk bulat di bagian ujungnya serta fialid sebagai tempat melekatnya konidia. Struktur tersebut ditunjukkan pada **Gambar 2** yaitu (a) konidiofor, (b) konidia, (c) vesikel, dan (d) fialid, dengan kepala konidia yang tampak menyebar (radiate) dan masing-masing konidia disokong oleh konidiospora. Karakteristik mikroskopis ini sesuai dengan penelitian [17] yang melaporkan bahwa *Aspergillus niger* memiliki konidia berbentuk bulat hingga semi bulat dengan dinding halus, konidiofor berdinding tebal, serta keberadaan vesikel dan fialid pada ujung konidiofor, serta sejalan dengan penelitian [16] yang menyatakan bahwa *Aspergillus niger* memiliki konidia bulat berwarna coklat hingga hitam, kepala konidia berbentuk bulat dan menyebar, serta konidiofor berbentuk silinder panjang, bening, dan halus dengan vesikel bulat yang dilengkapi sterigma dan fialid.

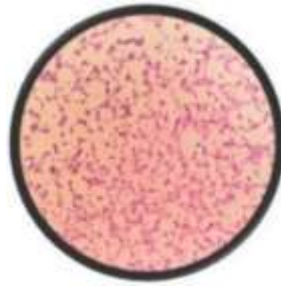
Berdasarkan hasil identifikasi tersebut, pengamatan koloni *Aspergillus niger* hasil peremajaan selama 5 hari secara makroskopis dan mikroskopis menunjukkan bahwa isolat termasuk dalam genus *Aspergillus* sp., yang dikenal sebagai mikroorganisme penghasil enzim selulase unggul [18]. Identifikasi ini penting untuk memastikan kesesuaian mikroba yang digunakan serta mencegah terjadinya kontaminasi dan kesalahan penggunaan spesies pada proses sakarifikasi.

### Analisis Morfologi Hasil Peremajaan Isolat *Lactobacillus Plantarum*

Pengamatan makroskopis pada **Gambar 3** menunjukkan bahwa kultur hasil fermentasi memperlihatkan pertumbuhan bakteri dalam media cair dengan warna kuning pucat yang relatif seragam, tanpa terbentuknya pigmen kuat, serta koloni berwarna putih susu pada bagian dasar media MRSB. Karakteristik ini mengindikasikan kultur yang homogen dan didominasi oleh bakteri asam laktat dari genus *Lactobacillus* sp. Hasil pengamatan ini sejalan dengan laporan [19] dan [20] yang menyatakan bahwa koloni bakteri asam laktat umumnya berwarna putih susu hingga krem. Tidak ditemukannya perubahan warna media atau pigmen gelap menunjukkan bahwa kultur bebas dari kontaminan penghasil pigmen, sehingga menguatkan bahwa isolat yang tumbuh merupakan *Lactobacillus plantarum* yang berperan dalam proses fermentasi.



**Gambar 3.** Pengamatan morfologi bakteri *Lactobacillus plantarum* pada media MRSB (de Man, Rogosa, and Sharpe Broth.) : Hasil analisis peremajaan isolat secara makroskopis



**Gambar 4.** Pengamatan morfologi bakteri *Lactobacillus plantarum* pada media MRSB (de Man, Rogosa, and Sharpe Broth.) : Hasil analisis peremajaan isolat secara mikroskopis (Hasil uji didapat dari Laboratorium Gizi Universitas Airlangga)

Pengamatan mikroskopis pada **Gambar 4** melalui pewarnaan Gram menunjukkan bahwa isolat hasil fermentasi berbentuk batang (basil) dan berwarna ungu, yang mengindikasikan sifat Gram-positif serta non-motil. Karakteristik ini merupakan ciri khas *Lactobacillus plantarum*, salah satu spesies bakteri asam laktat yang dominan dalam proses fermentasi pangan. Hasil ini diperkuat oleh uji laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Gizi Universitas Airlangga, yang menunjukkan bahwa *Lactobacillus plantarum* memiliki hasil uji katalase dan koagulase negatif.

**Tabel 2.** Hasil uji kultur isolate murni *Lactobacillus plantarum*

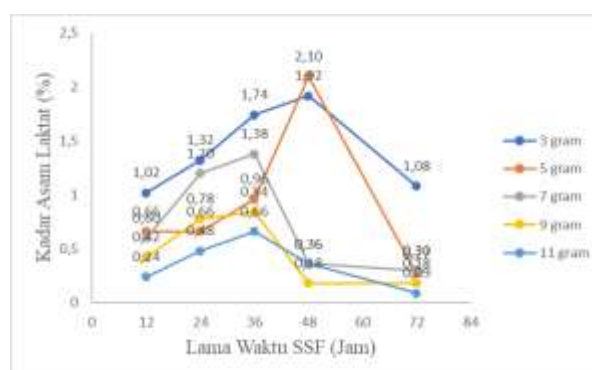
Sampel	Koagulase	Katalase
Kultur isolate murni ( <i>Lactobacillus sp</i> )	Negatif	Negatif

Secara mikroskopis, *Lactobacillus plantarum* hasil peremajaan kultur menunjukkan karakteristik Gram positif berbentuk batang, serta bersifat katalase negatif dan koagulase negatif sesuai dengan hasil uji pada **Tabel 2** Bakteri katalase negatif tidak mampu menguraikan  $H_2O_2$  menjadi air dan oksigen [21]. Sedangkan sifat koagulase negatif menunjukkan bahwa isolat tidak menghasilkan enzim penggumpal plasma yang umumnya diproduksi oleh *Staphylococcus aureus* [22] [23]. Hasil ini sejalan dengan penelitian [19] yang melaporkan bahwa isolat bakteri asam laktat dari fermentasi memiliki ciri Gram positif, berbentuk batang, dan bersifat katalase negatif.

Karakteristik tersebut memperkuat bahwa inokulum yang diamati termasuk dalam kelompok Bakteri Asam Laktat yang berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan berperan sebagai pangan fungsional karena bersifat katalase negatif dan koagulase negative [20]. Dengan demikian, hasil pengamatan mikroskopis pada penelitian ini menunjukkan morfologi khas bakteri asam laktat.

### Analisis Kadar Asam Laktat

Analisis kadar asam laktat dilakukan menggunakan metode titrasi asam-basa untuk menentukan konsentrasi asam laktat berdasarkan volume titran basa pada titik ekuivalen. Dengan demikian, diperoleh data kadar asam laktat (%) dan hasil pengukuran ini dijadikan dasar analisis untuk mengetahui kondisi terbaik, yaitu massa substrat dan lama fermentasi terbaik dalam menghasilkan kadar asam laktat melalui metode SSF dengan bantuan *Aspergillus niger* dan *Lactobacillus plantarum*. Hasil analisis disajikan dalam bentuk grafik berikut.



**Gambar 5.** Hubungan lama waktu SSF (jam) terhadap kadar asam laktat (%) pada masing-masing variasi massa substrat kulit nangka (gram)

Pengaruh massa substrat dan lama waktu SSF terhadap pembentukan asam laktat ditunjukkan melalui laju kenaikan dan penurunan kadar asam laktat sebagaimana disajikan pada **Tabel 3** Laju kenaikan dan penurunan kadar asam laktat dihitung dari kemiringan kurva kadar asam laktat terhadap waktu SSF, yang merepresentasikan perubahan kadar asam laktat per satuan waktu SSF.

**Tabel 3.** Persentase Laju Kenaikan dan Penurunan Kadar Asam Laktat Terhadap waktu SSF pada Berbagai Massa Substrat

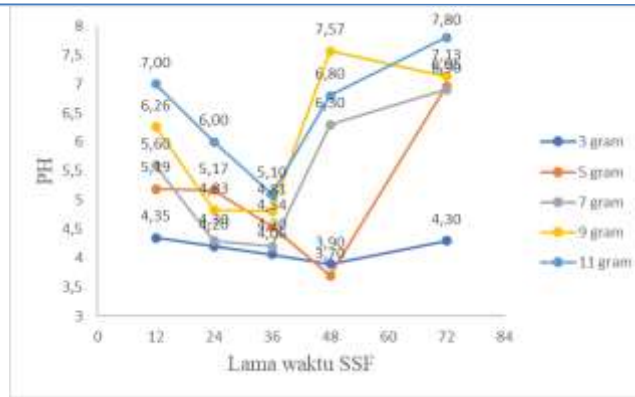
Massa Substrat	Kondisi Terbaik Asam Laktat	Kenaikan (%/jam)	Penurunan (%/jam)
3 gr	1,92	0,0250	-0,0350
5 gr	2,10	0,0400	-0,0763
7 gr	1,38	0,0325	-0,0300
9 gr	0,84	0,0175	-0,0183
11 gr	0,66	0,0175	-0,0158

Berdasarkan **Gambar 5** dan **Tabel 3**, kadar asam laktat pada proses SSF dipengaruhi oleh massa substrat dan lama fermentasi. Pada massa substrat 3 dan 5 gram, kadar asam laktat meningkat hingga mencapai puncak pada jam ke-48, masing-masing sebesar 1,92% dan 2,10%, dengan laju kenaikan berturut-turut sebesar 0,0250 dan 0,04 %/jam. Kondisi ini menunjukkan transfer nutrisi berlangsung lebih merata dan keseimbangan antara ketersediaan substrat dan aktivitas mikroba sehingga glukosa hasil hidrolisis dapat dimanfaatkan secara optimal [24]. *Aspergillus niger* menghasilkan enzim selulase yang menghidrolisis selulosa menjadi glukosa [25], yang selanjutnya difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* melalui jalur homofermentatif menjadi asam laktat [26]. Setelah mencapai kondisi puncak jam ke-48, kadar asam laktat menurun akibat memasuki fase stasioner hingga kematian *L. Plantarum* [27]. Sementara itu, pada massa substrat 7, 9, dan 11 gram, kadar asam laktat mencapai puncak lebih cepat pada jam ke-36, hal ini menunjukkan bahwa ketersediaan substrat pada awal proses SSF sangat melimpah sehingga enzim selulase dari *Aspergillus niger* dapat langsung menghidrolisis selulosa menjadi glukosa dalam jumlah besar [28]. Setelah mencapai titik puncak, Kadar asam laktat langsung mengalami penurunan hingga 0,30% pada massa 7 gram, 0,18% pada massa 9 gram, dan 0,09% pada massa 11 gram pada jam ke-72 dengan presentase penurunan masing-masing massa substrat 7 gram, 9 gram, dan 11 gram adalah 0,03%/jam, 0,0183%/jam, dan 0,0158%/jam, yang menunjukkan bahwa kelebihan substrat tidak diimbangi oleh konsentrasi mikroba sehingga pemanfaatan glukosa menjadi kurang optimal [29].

Berdasarkan **Gambar 5**, kondisi terbaik SSF diperoleh pada massa substrat kulit nangka 5 gram dengan lama fermentasi 48 jam, menghasilkan kadar asam laktat tertinggi sebesar 2,10%. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan penelitian Maryanty 2020 yang melaporkan kadar asam laktat 1,24–1,29% pada waktu SSF yang relatif sama [30], serta penelitian [31] yang hanya menghasilkan 1,33% melalui proses tanpa tahap sakarifikasi. Keunggulan penelitian ini terletak pada penerapan SSF yang memungkinkan sakarifikasi dan fermentasi berlangsung secara simultan serta pengaturan pH awal sesuai kondisi optimum *A. niger* dan *L. plantarum*, sehingga aktivitas mikroba berlangsung lebih efisien sejak awal proses. Selain itu, penggunaan *Lactobacillus plantarum* sebagai bakteri homofermentatif mendukung pembentukan asam laktat sebagai produk utama [9].

### Analisis Kandungan pH

**Gambar 6** menunjukkan perubahan nilai pH selama proses Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF) selama 72 jam pada variasi massa substrat kulit nangka sebesar 3, 5, 7, 9, dan 11 gram. Pengamatan pH dilakukan pada waktu 12, 24, 36, 48, dan 72 jam. Pada massa substrat 3 gram dan 5 gram terjadi penurunan pH paling signifikan dengan nilai pH terendah masing-masing sebesar 3,90 dan 3,70 pada waktu SSF 48 jam, sebelum kembali meningkat pada 72 jam. Pada massa substrat 7, 9, dan 11 gram, pH mencapai titik terendah lebih awal yaitu pada 36 jam dengan nilai masing-masing 4,20; 4,81; dan 5,10, kemudian meningkat kembali hingga mendekati atau melewati pH netral pada 72 jam. Secara umum, semakin tinggi kadar asam laktat yang dihasilkan, semakin rendah nilai pH yang terukur, menunjukkan hubungan berbanding terbalik antara kedua parameter tersebut [5].



Gambar 6. Hubungan lama waktu SSF (jam) terhadap pH pada masing-masing variasi massa substrat kulit nangka (gram)

Penurunan pH selama tahap awal fermentasi disebabkan oleh akumulasi asam laktat hasil metabolisme gula oleh *Lactobacillus plantarum*, di mana peningkatan konsentrasi ion H<sup>+</sup> menyebabkan media menjadi semakin asam [32]. Namun, pada fase akhir fermentasi pH cenderung stabil atau meningkat kembali, yang mengindikasikan penurunan aktivitas metabolik BAL akibat stres asam, perubahan struktur enzim, serta terganggunya permeabilitas membran sel sehingga kemampuan mikroba dalam memanfaatkan substrat menurun [33] [34]. Fenomena peningkatan pH setelah mencapai kondisi optimum juga dilaporkan pada penelitian fermentasi berbasis pangan dan biomassa lignoselulosa, termasuk fermentasi yoghurt dan substrat berbasis nangka, di mana produksi asam laktat menurun seiring berkurangnya viabilitas mikroorganisme [35].

#### Analisis Signifikansi Massa Substrat dan Lama Waktu SSF (ANOVA)

Analisis statistik dilakukan untuk mengetahui pengaruh massa substrat kulit nangka dan lama waktu *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) terhadap kadar asam laktat menggunakan uji ANOVA dua arah tanpa replikasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa massa substrat berpengaruh signifikan terhadap kadar asam laktat dengan nilai Fhitung sebesar 5,8215 yang lebih besar dari Fkritis 3,0069 serta nilai p-value 0,0043 (< 0,05). Waktu SSF juga memberikan pengaruh signifikan dengan nilai Fhitung 3,0396 yang lebih besar dari Fkritis 3,0069 dan p-value 0,0484 (< 0,05). Hal ini menunjukkan bahwa baik variasi massa substrat maupun lama waktu fermentasi secara individual memengaruhi pembentukan asam laktat selama proses SSF.

Tabel 4. Hasil Uji ANOVA : two-factor without replication

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-Value	F Crit
Massa	3,43908	4	0,85977	5,82145	0,00435	%
Waktu	1,79568	4	0,44892	3,03961	0,04840	%
Error	2,36304	16	0,14769			
Total	7,5978	24				%

Secara umum, peningkatan massa substrat menyediakan ketersediaan nutrisi yang lebih besar bagi mikroorganisme sehingga meningkatkan produksi asam laktat hingga mencapai titik optimum, sedangkan penambahan waktu fermentasi meningkatkan kadar asam laktat sampai kondisi terbaik sebelum menurun akibat akumulasi produk dan keterbatasan aktivitas mikroba. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa optimasi massa substrat dan waktu SSF merupakan faktor kunci dalam peningkatan kadar asam laktat dari kulit nangka.

#### 4. Kesimpulan

Variasi massa substrat dan lama waktu fermentasi terbukti berpengaruh terhadap kadar asam laktat yang dihasilkan pada proses *Simultaneous Saccharification and Fermentation* (SSF) menggunakan *Aspergillus niger* dan *Lactobacillus plantarum*. Kadar asam laktat menunjukkan peningkatan hingga mencapai kondisi terbaik tertinggi pada massa 5 gram sebesar 0,0400 %/jam, kemudian mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu fermentasi. Hasil penelitian juga menunjukkan hubungan berbanding terbalik antara kadar asam laktat dan nilai pH, di mana peningkatan kadar asam laktat diikuti

oleh penurunan pH sistem. Kadar asam laktat terbaik sebesar 2,10% diperoleh pada kombinasi massa substrat 5 gram dengan lama proses SSF selama 48 jam, yang ditandai dengan pH terendah sebesar 3,7.

## 5. Saran

Penulis menyarankan untuk melakukan variasi terhadap konsentrasi mikroba guna menentukan kondisi optimum dalam menghasilkan asam laktat. Meskipun proses SSF bertujuan melakukan sakarifikasi dan fermentasi secara simultan untuk mencegah penumpukan glukosa, efektivitas proses ini sangat dipengaruhi oleh keseimbangan antara konsentrasi substrat dan jumlah mikroba. Selain itu, penggunaan inkubator *shaker* selama proses SSF dianjurkan untuk meningkatkan homogenitas campuran dan mencegah pengendapan substrat.

## 6. Daftar Pustaka

- [1] H. Suo, S. Xiao, B. Wang, Y. X. Cai, and J. H. Wang, "Waste to Wealth: Dynamics and metabolic profiles of the conversion of jackfruit flake into value-added products by different fermentation methods," *Food Chem. X*, vol. 21, no. October 2023, p. 101164, 2024, doi: 10.1016/j.fochx.2024.101164.
- [2] R. R. Hermawani, Nasmawina, and R. C. Handayani, "Kandungan Mineral Tepung Kulit dan Jerami Nangka (*Artocarpus heterophyllus*)," *Bivalen Chem. Stud. J.*, vol. 4, no. 2, pp. 2–5, 2021.
- [3] Rahmayetty, D. Prasetio, Rosalia, and M. Gozan, "No Title," *Pembuatan Asam Laktat Berbahan Baku Tandan Kosong Kelapa Sawit Menggunakan Metod. Sak. Ferment. SIMULTAN*, pp. 278–285, 2014.
- [4] D. Maulinasari, A. Sugiharto, S. Khuzaimah, and N. Estiyantara, "Pemanfaatan Cairan Asam Laktat dari Fermentasi Limbah Kubis (*Brassica Oleracea*) untuk Pengawetan Buah Tomat dan Anggur," *J. Teknol. Bahan Alam*, vol. 3, no. 1, pp. 27–33, 2024, doi: 10.23917/jtba.v3i1.3714.
- [5] Dianasaril, U., R. Malaka, and F. Maruddin. "Nilai pH, Asam Laktat, dan Warna Susu fermentasi dengan Penambahan Kulit Buah Naga Merah (*Hycocereus polyrhizus*) pada Lama Inkubasi Berbeda." *J. Sains & Teknologi* 18.3 (2018): 213-218.
- [6] Suwasono, Sony. "Produksi Bioetanol Secara SHF Dan SSF Menggunakan *Aspergillus Niger*, *Trichoderma Viride* Dan *New Aule Instant Dry Yeast* Pada Media Kulit Ubi Kayu." *Jurnal Agroteknologi* (2017).
- [7] R. A. Hidayat and I. Isnawati, "Isolasi dan Karakterisasi Jamur Selulolitik pada Fermetodege: Pakan Fermentasi Berbahan Campuran Eceng Gondok, Bekatul Padi, dan Tongkol Jagung," *LenteraBio Berk. Ilm. Biol.*, vol. 10, no. 2, pp. 176–187, 2021, doi: 10.26740/lenterabio.v10n2.p176-187.
- [8] N. I. Mulyawati, M. A. H. Swasono, and D. Utomo, "Pengaruh Varietas Dan Konsentrasi Broth Kulit Pisang Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Aspergillus niger*," *Agromix*, vol. 10, no. 2, pp. 114–129, 2019, doi: 10.35891/agx.v10i2.1578.
- [9] F. Aprilia, Mukarlina, and Rahmawati, "No Title," *Isolasi Dan Karakterisasi Genus Bakteri Asam Laktat Dari Ferment. Daging Buah Pisang Kepok (*Musa Parad. L.*) April.*, vol. 10, pp. 37–41, 2021.
- [10] Pujasari, Anggraini. *Pengaruh jenis bakteri asam laktat dan konsentrasi inokulum terhadap produksi asam laktat dari air kelapa*. Diss. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, 2019.
- [11] F. R. Agustriano and A. N. Hasaanah, "Pemanfaatan Limbah Sebagai Bahan Baku Sintesis Karboksimetil Selulosa : Review," *Farmaka*, vol. 14, no. 3, pp. 87–94, 2016, [Online]. Available: <https://doi.org/10.24198/jf.v14i3.10788>
- [12] Arzita, Arzita, et al. "Pengembangan Biobriket Dari Limbah Kulit Nangka Muda (*Artocarpus Heterophyllus* Lamk.) Dengan Berbagai Konsentrasi Bahan Perikat Dari Tepung Tapioka." *Jurnal Media Pertanian* 9.1 (2024): 61-66.
- [13] Y. P. I. Lestari, N. Triadisti, and I. Zamzani, "Pengaruh Konsentrasi Naoh Dan H<sub>2</sub>so<sub>4</sub> Terhadap Isolasi Dan Identifikasi  $\alpha$ -Selulosa Menggunakan Proses Delignifikasi Serbuk Eceng Gondok (*Eichhornia crassipes*)," *J. Curr. Pharm. Sci.*, vol. 5, no. 1, pp. 429–438, 2021.
- [14] Kardam, Sonam, and Shabina Khanam. "Characterization of jackfruit peel as a promising resource for different thermo-chemical processes." *Sustainable Chemistry for Climate Action* 6 (2025): 100055.
- [15] N. Al Valqani, "Delignifikasi Selulosa dari Daun Mahkota Nanas (*Ananas comosus*) dan Aplikasinya Pada Tepung Premix Bakso Ikan Tenggiri (*Scromberomorus commerson*)," Universitas Hasanuddin, 2024.
- [16] I. Erdiansyah and Q. Zaini, "Identifikasi Karakteristik Agens Hayati *Aspergillus niger* dan Uji Daya Hambat terhadap Perkembangan Penyakit Bercak Daun pada Kacang Tanah," *Agropross Natl.*

- Conf. Proc. Agric.*, vol. 2023, pp. 296–306, 2023, doi: 10.25047/agropross.2023.483.
- [17] R. N. N. Putu, K. J. M. Srie, and P. Ayu, Ida Suryanti, “Isolasi dan Identifikasi Jamur Mikroskopis Pada Rizofe Tanaman Jeruk Siam (*Citrus nobilis* Lour.) di Kecamatan Kintamani, Bali,” *J. Pendidik. Biol. Undiksha*, vol. 6, no. 1, pp. 10–19, 2019.
- [18] B. S. Gruben, M. R. Mäkelä, J. E. Kowalczyk, M. Zhou, I. Benoit-Gelber, and R. P. De Vries, “Expression-based clustering of CAZyme-encoding genes of *Aspergillus niger*,” *BMC Genomics*, vol. 18, no. 1, pp. 1–18, 2017, doi: 10.1186/s12864-017-4164-x.
- [19] Z. Fauziyah, L. Nia, F. Julia Nandi, R. Lingga, and H. Helmi, “Identifikasi dan Potensi Probiotik Bakteri Asam Laktat pada Pangan Fermentasi Lokal,” *J. Bios Logos*, vol. 13, no. 2, pp. 54–64, 2023, doi: 10.35799/jbl.v13i2.47900.
- [20] K. D. A. M. Putrayana, A. A. A. P. Permatasari, N. K. D. Lestari, and N. K. Y. Sari, “Karakterisasi Dan Uji Antagonis *Lactobacillus plantarum* Dad-13 Sebagai probiotik Terhadap *Escherichia coli* Dan *Staphylococcus aureus*,” *J. Biol. Indones.*, vol. 19, no. 1, pp. 93–97, 2023, doi: 10.47349/jbi/19012023/93.
- [21] F. Yuan *et al.*, “The Richness and Diversity of Catalases in Bacteria,” *Front. Microbiol.*, vol. 12, no. March, pp. 1–11, 2021, doi: 10.3389/fmicb.2021.645477.
- [22] A. Ramadani, Y. P. Rahayu, M. P. Nasution, and R. Yuniarti, “Analisis cemaran bakteri *Staphylococcus aureus* pada daging ayam krispy pinggir jalan dan fast food di daerah Teladan kota Medan,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 6, no. 3, pp. 1265–1272, 2023, doi: 10.36490/journal-jps.com.v6i3.205.
- [23] N. Tajabadi, M. Mardan, N. Saari, S. Mustafa, R. Bahreini, and M. Y. A. Manap, “Identification of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *Lactobacillus fermentum* from honey stomach of honeybee,” *Brazilian J. Microbiol.*, vol. 44, no. 3, pp. 717–722, 2013, doi: 10.1590/S1517-83822013000300008.
- [24] I. A. Setyowulan, E. P. Nurlaili, F. Nurdyansyah, and U. H. A. Hasbullah, “Pengaruh Konsentrasi Substrat Tepung Kulit Pisang Kepok Dan Kecepatan Pengadukan Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus*,” *J. Teknol. Pertan. Andalas*, vol. 22, no. 2, pp. 118–125, 2018, doi: 10.25077/jtpa.22.2.118-125.2018.
- [25] A. M. Sholihati, M. Baharuddin, and Santi, “Produksi dan Uji Aktivitas Enzim Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis*,” *Al Kim.*, vol. 3, no. 2, pp. 78–90, 2015.
- [26] D. Xu, W. Ding, W. Ke, F. Li, P. Zhang, and X. Guo, “Modulation of metabolome and bacterial community in whole crop corn silage by inoculating homofermentative *Lactobacillus plantarum* and heterofermentative *Lactobacillus buchneri*,” *Front. Microbiol.*, vol. 10, no. JAN, pp. 1–14, 2019, doi: 10.3389/fmicb.2018.03299.
- [27] A. Hidayatulloh, J. Gumilar, and E. Harlia, “Potensi Senyawa Metabolit Yang Dihasilkan *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 Sebagai Bahan Biopreservasi Dan Anti Bakteri Pada Bahan Pangan Asal Hewan,” *Jitp*, vol. 7, no. 2, pp. 1–6, 2019.
- [28] D. Istia’nah, U. Utami, and A. Barizi, “Karakterisasi Enzim Amilase dari Bakteri *Bacillus megaterium* pada Variasi Suhu, pH dan Konsentrasi Substrat,” *J. Ris. Biol. dan Apl.*, vol. 2, no. 1, p. 11, 2020, doi: 10.26740/jrba.v2n1.p11-17.
- [29] D. N. Saputri, C. Sindhuwati, H. Hardjono, M. Mufid, A. Mustain, and A. S. Suryandari, “Studi Awal Fed – Batch Hidrolisis Enzimatik High Total Solid Loading,” *DISTILAT J. Teknol. Separasi*, vol. 7, no. 2, pp. 360–366, 2023, doi: 10.33795/distilat.v7i2.254.
- [30] Y. Maryanty, F. L. W. Saputra, and R. Prasetyo, “Pembuatan Asam Laktat dari Selulosa oleh Bakteri *Lactobacillus delbrueckii* dengan Selulase dari Bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus circulans*,” *J. Tek. Kim. dan Lingkungan*, vol. 4, no. 2, pp. 153–161, 2020, doi: 10.33795/jtkl.v4i2.179.
- [31] N. C. Masniah, “Uji Efektivitas Pemanfaatan Limbah Kulit Nangka (*Artocarpus heterophyllus*) sebagai Bahan Substrat pada fermentasi Asam Laktat oleh *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*,” *Skripsi*, vol. 1, pp. 15–18, 2021.
- [32] A. Meilina, Y. Nazarena, and Y. Hartati, “Pengaruh Lama Penyimpanan Terhadap Nilai pH Dadih Fortifikasi Vitamin D3,” *J. Sehat Mandiri*, vol. 17, no. 1, pp. 126–134, 2022, doi: 10.33761/jsm.v17i1.612.
- [33] Y. Okfrianti, D. Darwis, and A. Pravita, “Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* C410LI dan *Lactobacillus Rossiae* LS6 yang Diisolasi dari Lemea Rejang terhadap Suhu, pH dan GOKfrianti, Y., Darwis, D., & Pravita, A. (2018). Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus Plantarum* C410LI dan *Lactobacillus*,” *J. Ilmu dan Teknol. Kesehat.*, vol. 6, no. 1, pp. 49–58, 2018.
- [34] M. Baharuddin *et al.*, “Chimica et Natura Acta Karakterisasi Enzim Amilase Isolat Bakteri R 2 M Larva Kumbang Sagu dari Luwu Utara,” *J. Chim.*, vol. 10, no. 2, pp. 81–87, 2022, [Online].

- 
- Available: <http://jurnal.unpad.ac.id/jcena>
- [35] R. Adrianto, D. Wiraputra, M. D. Jyoti, and A. Z. Andaningrum, "Total Bacteria of Lactic Acid, Total Acid, pH Value, Syneresis, Total Dissolved Solids and Organoleptic Properties of Yoghurt Back Slooping Method," *J. Agritechno*, vol. 13, no. 2, pp. 105–111, 2020, doi: 10.20956/at.v13i2.358.