

KOMPOSISI ASAM ORGANIK HASIL FERMENTASI CAIR LIMBAH NENAS DAN DAUN *Indigofera zollingeriana* SEBAGAI FEED ADDITIVE ALAMI

Rizki Palupi^{*1)}, Fitri Nova Liya Lubis¹, Marieska Verawaty², Nova Oktarinah¹
¹Jurusan Teknologi dan Industri Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya
²Jurusan Biologi FMIPA Universitas Sriwijaya
^{*}Korespondensi: Tel.+6285273528137
email: palupiarda@yahoo.com

ABSTRAK

Asam organik dapat dihasilkan dari fermentasi limbah nenas, dimana limbah nenas mengandung zat-zat makanan seperti glukosa dan fruktosa, selain limbah nenas penggunaan daun *Indigofera zollingeriana* dapat dijadikan sebagai substrat dalam fermentasi karena mengandung protein kasar sebesar 28,98% yang dapat diandalkan sebagai sumber Nitrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui komposisi substrat terbaik dari limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* dalam fermentasi cair yang menghasilkan asam organik terbaik yang dapat digunakan sebagai feed additive alami bagi ternak unggas. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan pada penelitian ini berupa kombinasi limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana*, yaitu : P1 (limbah nenas 100%), P2 (limbah nenas 98% dan daun *Indigofera zollingeriana* 2%), P3 (limbah nenas 96% dan daun *Indigofera zollingeriana* 4%), P4 (limbah nenas 94% dan daun *Indigofera zollingeriana* 6%), P5 (limbah nenas 92% dan daun *Indigofera zollingeriana* 8%). Parameter yang diamati adalah kandungan asam asetat, asam laktat dan asam sitrat yang diukur dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* menurunkan kandungan asam asetat, meningkatkan kandungan asam laktat dan sitrat. Kesimpulan komposisi terbaik pada perlakuan limbah nenas 94% dan 6% daun *Indigofera zollingeriana* yang mengandung asam asetat 162,00 ppm, asam laktat 824,25 ppm dan asam sitrat 984,25 ppm.

Kata Kunci: Asam Organik, Daun *Indigofera zollingeriana*, Fermentasi, dan Limbah Nenas.

PENDAHULUAN

Meningkatnya kebutuhan protein hewani masyarakat, mendorong peternak untuk meningkatkan produksi dan kualitas produk peternakan yang akan dihasilkan untuk memenuhi permintaan pasar. Cara yang dapat dilakukan untuk memperbaiki kualitas produk peternakan dapat dilakukan dengan penambahan *feed additive* alami didalam pakan ternak. Salah satu *feed additive* yang dapat digunakan adalah asam organik. Sumber asam organik dapat diperoleh melalui proses fermentasi buah-buahan.

Penggunaan buah-buahan dalam pembuatan asam organik kurang efisien, karena biayanya menjadi mahal. Upaya yang dapat dilakukan untuk meminimalkan biaya adalah dengan memanfaatkan limbah buah-buahan, diantaranya limbah nenas. Limbah nenas dapat dijadikan substrat pada proses fermentasi, dimana limbah nenas mengandung zat-zat makanan seperti glukosa dan fruktosa (Andriani *et al.*, 2013). Selain limbah nenas penggunaan daun *Indigofera zollingeriana* dapat juga dijadikan sebagai substrat. Palupi *et al.* (2014) daun *Indigofera zollingeriana* mengandung protein kasar sebesar 28,98% sehingga protein daun *Indigofera zollingeriana* dapat diandalkan sebagai sumber Nitrogen. Kebutuhan Nitrogen diperlukan karena dapat mempercepat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus* pada fermentasi. Fermentasi merupakan proses yang menggunakan mikroba sebagai inokulan, salah satu mikroba yang berperan penting dalam proses fermentasi ialah bakteri asam laktat (BAL), dimana bakteri asam laktat terdapat didalam yoghurt yang membantu proses fermentasi.

Fermentasi limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* dengan penambahan bakteri *Lactobacillus* diharapkan menghasilkan supernatan yang kaya akan asam organik. Selama ini belum ada penelitian yang memanfaatkan daun *Indigofera zollingeriana* sebagai komponen substrat dalam proses fermentasi, oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian tentang penggunaan limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* dalam fermentasi cair yang menghasilkan asam organik sehingga dapat digunakan sebagai *feed additive* alami bagi ternak unggas.

BAHAN DAN METODE

Bab bahan dan metode menguraikan beberapa hal terkait metode penelitian, diantaranya tempat dan waktu penelitian, bahan dan alat yang digunakan, metode penelitian, dan analisis data. Uraian masing-masing dapat dibuat dalam bentuk sub bab terpisah. Penjelasan masing-masing sub bab harus sesuai dengan judul sub bab yang dibuat.

2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan di Laboratorium Nutrisi dan Makanan Ternak Fakultas Pertanian dan di Laboratorium Kimia Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya.

2.2 Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada proses pembuatan fermentasi cair diantaranya yaitu limbah nenas diperoleh dari limbah pembuatan selai nenas, daun *Indigofera zollingeriana* diambil dari kandang Peternakan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya, *aquades*, gula, yoghurt merk “Cimory” plan. Bahan yang digunakan untuk analisis asam organik adalah *aquades*, kid asam asetat, kid asam laktat, kid asam sitrat, asam fosfat 85%, dan KH_2PO_4 .

Alat-alat yang digunakan pada proses pembuatan fermentasi cair diantaranya yaitu kantong plastik ukuran 1 kg, mesin *copper* (pencacah bahan), blender, karet gelang, timbangan, kompor, panci pengukus, 20 toples, label, pengaduk dan isolasi. Peralatan yang digunakan untuk analisis asam organik dengan metode HPLC adalah alat HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*), pipet, aluminium foil, sendok, pengaduk magnetik, kertas saring *whatmen* 0,2 dan 0,45 μm , dan neraca analitik.

2.3 Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental yang menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), yang terdiri dari 5 perlakuan dan 4 ulangan. Perlakuan pada penelitian ini berupa kombinasi antara limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana*. Adapun perlakuan terdiri dari: P1 (fermentasi limbah nenas 100%), P2 (fermentasi limbah nenas 98% dengan 2% daun *Indigofera zollingeriana*), P3 (fermentasi limbah nenas 96% dengan 4% daun *Indigofera zollingeriana*), P4 (fermentasi limbah nenas 94% dengan 6% daun *Indigofera zollingeriana*) dan P5 (fermentasi limbah nenas 92% dengan 8% daun *Indigofera zollingeriana*).

Peubah yang diamati dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Analisis Kandungan Asam Asetat dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*)
2. Analisis Kandungan Asam Laktat dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*)
3. Analisis Kandungan Asam Sitrat dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*)

2.4. Tahapan Penelitian

2.4.1. Pembuatan Fermentasi

Proses fermentasi limbah nenas mengacu kepada Nurhayati *et al.* (2014) dilakukan modifikasi dengan penambahan daun *Indigofera zollingeriana*. Limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* segar ditimbang kemudian diblender, setelah halus dimasukkan kedalam kantong plastik sesuai masing-masing perlakuan. Sterilisasi dilakukan dengan cara dikukus selama 30 menit pada suhu 100⁰C, kemudian didinginkan selama 10 menit. Setelah Substrat dingin dimasukkan kedalam toples yang ditambahkan air 2 liter, yoghurt 100 ml dan gula 15 g, setelah itu toples ditutup dengan rapat dan beri label sesuai perlakuan, waktu inkubasi yaitu selama 72 jam.

Selama fermentasi berlangsung dilakukan pengadukan terhadap media fermentasi setiap 6 jam sekali, hal ini bertujuan untuk homogenisasi nutrisi pada media fermentasi. Pemisahan biomassa dan supernatan hasil fermentasi cair kombinasi limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* yang mengandung asam organik, dengan cara memisahkan biomassa dan supernatan yang diperas menggunakan kain. Supernatan yang dihasilkan dianalisis untuk mengetahui kandungan asam organik hasil fermentasi, yaitu asam asetat, asam laktat dan asam sitrat dengan menggunakan metode *Hight Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

2.4.2. Preparasi Sampel Pengujian Asam Organik

Analisis asam organik dengan menggunakan metode HPLC (*High Performance Liquid Chromatograph*) menurut Nour *et al.* (2010)

Preparasi sampel asam organik dilakukan dengan pengambilan asam asetat, laktat dan sitrat sebanyak 10 ml, kemudian dilakukan penambahan pada 90 ml fase gerak, asam-asam standar di variasikan untuk kurva standar, variasi yang digunakan mulai dari konsentrasi 0,01%, 0,02%, 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,1%, 0,2%, 0,3%, dan 0,4%. Asam organik pada sampel dipisahkan menggunakan HPLC dengan kolom YMC Triant C-18. Fase gerak yang digunakan terdiri dari 50 mM larutan fosfat yang dibuat dari 6,8 g kalium dihidrogen fosfat dalam 900 ml aquades, larutan di tambah dengan aquades 1000 ml. Fase gerak disaring menggunakan kertas saring 0,45 µm. Alat HPLC diatur pada suhu ruang 25⁰c dengan panjang gelombang 210 nm. Laju alir fase gerak adalah 0.7 mL/menit. Alat HPLC dibiarkan sampai *baseline* stabil. Asam

standard dan sampel sebanyak 5 g yang dilarutkan dengan fase gerak diambil 100 µl, disaring menggunakan kertas saring 0,2 µm selanjutnya disuntik ke HPLC.

2.5. Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis ragam sesuai dengan Rancangan Acak Lengkap. Jika terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan, maka akan dilakukan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (Steel and Torrie, 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Kandungan Asam Asetat

Kandungan asam asetat pada supernatan hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan Kandungan Asam Asetat Hasil Fermentasi Cair Limbah Nenas dan Daun *Indigofera Zollingeriana*.

| Perlakuan | Kandungan Asam Asetat (ppm) |
|-----------|-----------------------------|
| P1 | 256,75 ^a ±11,77 |
| P2 | 237,00 ^b ± 2,91 |
| P3 | 209,50 ^c ±11,16 |
| P4 | 162,00 ^d ± 6,51 |
| P5 | 147,75 ^d ± 2,86 |

Keterangan: P1 (Limbah nenas 100%), P2 (Limbah nenas 98% dan daun *Indigofera zollingeriana* 2%), P3 (Limbah nenas 96% dan daun *Indigofera zollingeriana* 4%), P4 (Limbah nenas 94% dan daun *Indigofera zollingeriana* 6%), P5 (Limbah nenas 92% dan daun *Indigofera zollingeriana* 8%)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan asam asetat hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana*. Semakin berkurang penggunaan limbah nenas, maka semakin menurunkan produksi asam asetat. Hal ini disebabkan oleh menurunnya penggunaan glukosa yang terdapat dalam limbah nenas untuk media fermentasi, sehingga semakin sedikit glukosa yang bisa dimanfaatkan untuk menghasilkan asam asetat. Sejalan dengan hasil penelitian (Novitasari *et al.*, 2008) limbah nenas memiliki kandungan karbohidrat sebesar 17,53% sehingga limbah nenas dapat dijadikan sebagai substrat fermentasi.

Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa kandungan asam asetat P1 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P2, P3, P4 dan P5. Perlakuan P2 berbeda dengan P3, P4 dan P5, begitupun P3 berbeda dengan P4 dan P5 perbedaan tersebut menunjukkan bahwa semua kombinasi limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* memberikan pengaruh yang berbeda terhadap produksi asam asetat hasil fermentasi cair. Perlakuan

pada P1 lebih efektif menghasilkan asam asetat, karena jumlah limbah nenas yang digunakan lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya dalam proses fermentasi, sehingga laju pembentukan asam asetat tinggi. Kandungan glukosa yang terdapat pada limbah nenas merupakan faktor yang mempengaruhi kadar asam asetat yang dihasilkan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Widiastuti (2008), semakin tinggi kadar glukosa yang terkandung pada bonggol pisang raja sere, maka alkohol yang dihasilkan pada proses fermentasi juga tinggi. Fermentasi karbohidrat yang di pecah menjadi glukosa, kemudian glukosa tersebut dipecah menjadi alkohol yang dapat menghasilkan asam asetat (Andriani, 2015).

Produksi asam asetat pada perlakuan P4 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan perlakuan P5. Hal ini diduga penambahan daun *Indigofera zollingeriana* sebanyak 6% dan 8% memiliki pengaruh yang sama terhadap kandungan asam asetat hasil fermentasi limbah nenas. Penambahan daun *Indigofera zollingeriana* sampai level 8% mengalami penurunan produksi asam asetat sehingga kandungan asam asetat yang dihasilkan pengaruhnya sama pada P4 dan P5. Bertambahnya penggunaan daun *Indigofera zollingeriana* menyebabkan semakin berkurang limbah nenas dalam substrat. Sedikitnya sumber karbohidrat yang terkandung dalam media, menyebabkan kandungan gula yang akan di fermentasikan menjadi asam asetat semakin rendah, Faktor yang mempengaruhi produksi asam asetat adalah sumber karbon yang terkandung dari limbah nenas, karena media yang mengandung glukosa, sukrosa dan laktosa yang paling banyak digunakan sebagai substrat pada fermentasi yang dapat menghasilkan asam asetat (Mohammad *et al.*, 2014).

3.2. Analisis Kandungan Asam Laktat

Kandungan asam laktat pada supernatan hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rataan Kandungan Asam Laktat hasil Fermentasi Cair Limbah Nenas dan Daun *Indigofera zollingeriana*.

| Perlakuan | Kandungan Asam Laktat (ppm) |
|-----------|-----------------------------|
| P1 | 194,00 ^a ±12,34 |
| P2 | 511,25 ^b ±10,98 |
| P3 | 720,75 ^c ±27,71 |
| P4 | 824,25 ^d ±35,68 |
| P5 | 793,50 ^d ±30,45 |

Keterangan: P1 (Limbah nenas 100%), P2 (Limbah nenas 98% dan daun *Indigofera zollingeriana* 2%), P3 (Limbah nenas 96% dan daun *Indigofera zollingeriana* 4%), P4 (Limbah nenas 94% dan daun *Indigofera zollingeriana* 6%), P5 (Limbah nenas 92% dan daun *Indigofera zollingeriana* 8%)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan asam laktat hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana*. Hal ini disebabkan oleh kombinasi perlakuan dengan penambahan daun *Indigofera zollingeriana* sebagai sumber protein bagi pertumbuhan bakteri asam laktat, dapat meningkatkan jumlah populasi bakteri *Lactobacillus*, sehingga salah satu asam organik yang dihasilkan berupa asam laktat menjadi meningkat. Menurut Febriningrum (2013), bakteri asam laktat *L. bulgaricus*, mampu memfermentasi bahan yang mengandung gula, dengan mengubah glukosa pada sari buah nenas menjadi asam laktat. Herawati dan Wibawa (2011) menambahkan bahwa gula (sukrosa, glukosa, dan fruktosa) disamping sebagai sumber rasa manis juga merupakan sumber energi yang baik bagi mikroorganisme dalam proses perkembangbiakan.

Hasil uji lanjut menunjukan bahwa kandungan asam laktat P1 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P2, P3, P4, dan P5. Perlakuan P2 berbeda dengan P3, P4 dan P5, begitupun P3 berbeda dengan P4 dan P5. Berbedanya pengaruh kombinasi limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* menunjukkan bahwa semua kombinasi limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* memberikan pengaruh yang berbeda terhadap perkembangan bakteri *Lactobacillus* dalam produksi asam laktat hasil fermentasi limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana*. Hal ini diduga bahwa penambahan daun *Indigofera zollingeriana* sampai level 6% menyebabkan perbedaan jumlah BAL dalam menghasilkan asam laktat. Selain hal tersebut kandungan asam laktat hasil fermentasi dapat meningkat disebabkan karena ketersediaan substrat yang sesuai dalam media fermentasi. Media fermentasi membutuhkan nutrisi untuk pertumbuhan mikroba. Nutrisi yang dapat digunakann untuk pertumbuhan mikroba dalam proses fermentasi adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi sebagai penghasil energi bagi mikroba, sedangkan nutrisi lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah sedikit dari pada karbohidrat (Azizah *et al.*, 2012). Nahariah *et al.* (2013), menyatakan bahwa adanya kondisi media yang sesuai dapat berpengaruh terhadap metabolisme dari mikroba, sehingga mikroba dapat tumbuh dan berkembang.

Kandungan Asam laktat hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* perlakuan P4 tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan P5 hal ini diduga karena ketersediaan sumber nitrogen dari daun *Indigofera zollingeriana* sebanyak 6% dan 8% sama pengaruhnya terhadap populasi bakteri asam laktat yang

di hasilkan dalam proses fermentasi. Busairi (2010) menyatakan bahwa penambahan sumber nitrogen pada media fermentasi limbah nenas dapat meningkatkan produksi biomassa sel. Zummah dan Wikandari (2013) menyatakan bahwa adanya aktivitas metabolisme bakteri pada produk fermentasi akan menghasilkan aktivitas bakteri asam laktat, sehingga menghasilkan jumlah bakteri yang sama. Kecepatan pertumbuhan BAL pada proses fermentasi ditentukan oleh kesesuaian dan kandungan nutrisi yang ada dalam media fermentasi (Nisa *et al.*, 2008).

3.3. Analisis Kandungan Asam Sitrat

Kandungan asam sitrat pada supernatan hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rataan Kandungan Asam Sitrat Hasil Fermentasi Cair Limbah Nenas dan Daun *Indigofera zollingeriana*.

| Perlakuan | Kandungan Asam Sitrat (ppm) |
|-----------|-----------------------------|
| P1 | 753,00 ^a ±34,34 |
| P2 | 916,50 ^b ±26,29 |
| P3 | 946,50 ^{bc} ±34,51 |
| P4 | 984,25 ^c ± 6,41 |
| P5 | 895,50 ^b ±35,35 |

Keterangan: P1 (Limbah nenas 100%), P2 (Limbah nenas 98% dan daun *Indigofera zollingeriana* 2%), P3 (Limbah nenas 96% dan daun *Indigofera zollingeriana* 4%), P4 (Limbah nenas 94% dan daun *Indigofera zollingeriana* 6%), P5 (Limbah nenas 92% dan daun *Indigofera zollingeriana* 8%)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan asam sitrat, karena hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana*, dimana penggunaan daun *Indigofera zollingeriana* yang sesuai dapat di gunakan sebagai sumber nitrogen pada proses fermentasi. Asam sitrat dapat diproduksi melalui proses fermentasi yang memanfaatkan aktivitas mikroorganisme (Manafaati, 2011).

Hasil uji lanjut menunjukan bahwa kandungan asam sitrat terdapat pada P1 berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan P2, P3, P4, dan P5. Hal ini disebabkan oleh laju fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* lebih meningkat dibandingkan tanpa penambahan daun *Indigofera zollingeriana*. Peningkatan kandungan asam sitrat terjadi karena kesesuaian substrat sebagai sumber nutrisi bagi perkembangan BAL yang dapat mempengaruhi produksi asam sitrat. Substrat terbaik untuk menghasilkan asam sitrat adalah sukrosa, glukosa, fruktosa dan laktosa. Limbah nenas mengandung zat-zat makanan seperti glukosa dan fruktosa (Andriani *et al.*,

2013), selain membutuhkan substrat produksi asam sitrat juga memerlukan sumber Nitrogen. Penggunaan Nitrogen dapat di peroleh dari daun *Indigofera zollingeriana*. Palupi *et al.* (2014) daun tanaman *Indigofera zollingeriana* mengandung protein kasar sebesar 28,98% sehingga protein daun *Indigofera zollingeriana* dapat diandalkan sebagai sumber Nitrogen, yang sesuai untuk digunakan pada proses produksi asam sitrat.

Kandungan asam sitrat pada P2 tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan P3 dan P5 akan tetapi berbeda nyata dengan P4. Kandungan asam sitrat hasil fermentasi meningkat secara bertahap pada P1, P2, P3, P4 dan terjadi penurunan kandungan asam sitrat pada P5. Penurunan kandungan asam sitrat terjadi karena jumlah populasi bakteri pada P5 sama terhadap produksi P2 dan P3 dalam menghasilkan asam sitrat. Hal ini diduga karena jumlah populasi BAL pada P5 mengalami penurunan, yang disebabkan berkurangnya ketersediaan nutrisi yang di butuhkan oleh BAL untuk berkembangbiak. Kumalasari *et al* (2012) mangatakan bahwa bakteri asam laktat mampu tumbuh dan membelah diri sampai jumlah maksimum yang diperoleh oleh kondisi lingkungan dan nutrisi didalam media. Faktor yang mempengaruhi perkembangan BAL dalam fermentasi adalah ketersediaan nutrisi dan energi cadangan dalam fermentasi (Puspawati *et al.* 2010).

Asam sitrat hasil fermentasi cair limbah nenas dan daun *Indigofera zollingeriana* P3 tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan P4, perbedaan antara perlakuan yang tidak terlalu signifikan terhadap produksi asam sitrat disebabkan karena kecepatan perkembangan BAL pada P3 dan P4 sama, jumlah nutrisi pada P3 dan P4 dengan perbedaan yang tidak terlalu jauh, sehingga produksi asam sitrat yang di hasilkan sama. Pertumbuhan bakteri dalam fermentasi didasarkan adanya sumber energi dan nutrisi yang terdapat dalam media fermentasi (Nahariah *et al.*, 2015). Kandungan asam sitrat akan terus meningkat sampai nutrisi yang terdapat dalam media habis, karena jika nutrisi tidak tercukupi maka mikroba tidak bisa berkembangbiak. Demirel *et al.* (2004) melakukan penelitian untuk menaikkan produktivitas asam sitrat pada pengaruh penambahan nutrisi dalam media produksi, dengan melakukan pengaturan proses fermentasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

4.1 Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa komposisi substrat terbaik pada fermentasi cair terdapat pada 94% limbah nenas dan 6% daun *Indigofera zollingeriana* yang menghasilkan kandungan asam asetat 162 ppm, asam laktat 824,25 ppm dan asam sitrat 984,25 ppm.

4.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, disarankan penggunaan supernatan hasil fermentasi cair dengan komposisi substrat 94% limbah nenas dan 6% daun *Indigofera zollingeriana* sebagai *feed additive* alami bagi ternak unggas.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani RD, Akeprathumchai S, Loeteng K, Poomputsa K, dan Mekvichitsaeng P. 2013. Pemanfaatan limbah buah nanas sebagai media pertumbuhan *Xanthophyllumyces dendrorhous*. *J. Tek. Pertanian*. 14 (3), p.193-200.
- Andriani W, Darmawati dan Wulandari S. 2015. Kajian Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol Tape Ketan Hitam Sebagai Pengembangan Lembar Kerja Pada Konsep Bioteknologi Konvensional Kelas XII SMA. (Skripsi). Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Riau. Riau.
- Azizah N, Al-Barrii AN, dan Mulyani S. 2012. Pengaruh Lama Fermentasi Terhadap Kadar Alkohol, pH dan Produksi Gas Pada Proses Fermentasi Bioetanol dari Whey dengan Substitusi Kulit Nenas. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, 1(3): p.72-78.
- Busairi AM. 2010. Effect of Nitrogen source and initial sugar concentration on lactic acid fermentation of pineapple waste using *L.delbrueckii*. *J. Tek. Pertanian*. 1(31), p.31-34.
- Demirel, Yaykasli, Yasar. 2004. The production of citric acid by using immobilized *Aspergillus niger A-9* and investigation of its various effects. *Food Chemistry*. 393 – 396.
- Febriningrum. 2013. Pengaruh Konsentrasi Substara Kulit Nenas dan Kecepatan Pengadukan Terhadap Pertumbuhan *Lactobacillus platinum* untuk Produksi Asam Laktat. *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan*. 9-3.
- Herawati DA. dan Wibawa AA. 2011. Pengaruh Konsentrasi susu skim dan waktu fermentasi terhadap hasil pembuatan soyoghurt. *Jurnal Ilmiah Teknik Lingkungan*. 1(2): p.48-50.
- Kumalasari KED, Nurwantoro dan Mulyani S. 2012. Pengaruh kombinasi susu dengan air kelapa terhadap total bakteri asam laktat, total gula dan keasaman drink yoghurt. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 1 (2): p.48-53.
- Manafaati, R. 2011. Pengaruh komposisi media fermentasi terhadap produksi asam sitrat oleh *Aspergillus niger*. *Jurnal Fkuida*. 8(1), p.23-27.

- Mohammad SM, Rahman NA, Khalil MS, dan Abdullah SRS. 2014. *An Overview of Biocellulose Production Using Acetobacter xylinum Culture*, *Advances in Biological Research* 8 (6), p.307-313.
- Nahariah N, Legowo AM, Abustam E, Hintono A, Pramono YB, dan Yuliati FN. 2013. Kemampuan tumbuh bakteri *Lactobacillus plantarum* pada putih telur ayam ras dengan lama fermentasi yang berbeda. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Peternakan*. 3(1) : p.33-39.
- Nahariah N, Legowo AM, Abustam E, dan Hintono A. 2015. *Angiotensin I-converting enzyme inhibitor activity on egg albumen fermentation*. *Asian Australas. J.Anim.Sci.* 28(6), p.855-861.
- Nisa FC, Kusnadi J, dan Crisnasari. 2008. Viabilitas dan deteksi subletal bakteri probiotik pada susu kedelai fermentasi instan metode pengeringan beku. *Jurnal Teknologi Pertanian*, 9(1): p.40-51.
- Novitasari E, Rosaliana E, I. Susanti dan Eka N. 2008. Pembuatan Etanol dari Sari Kulit Nenas. *Jurnal Industrial*. p.180-193.
- Nurhayati, Nelwida dan Berliana. 2014. Pengaruh tingkat yoghurt dan waktu fermentasi terhadap pencernaan in vitro bahan kering, bahan organik, protein dan serat kasar kulit nenas fermentasi. *Bulletin Peternakan*. 38 (3), p.182-188.
- Palupi R, Abdullah L, Astuti DA, dan Sumiati. 2014. Potensi dan Pemanfaatan Tepung Pucuk *Indigofera sp* sebagai Bahan Pakan Substitusi Bungkil Kedelai dalam Ransum Ayam Petelur. *JITV*. 19(3): p.210-219.
- Puspawati NN, Nuraida L, Adawiyah DR. 2010. Penggunaan berbagai jenis bahan pelindung untuk mempertahankan viabilitas bakteri asam laktat yang diisolasi dari air susu ibu pada proses pengeringan beku. *J Teknol Ind Pangan*. 1: p.59-65.
- Steel RGD, dan Torrie JH. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika*, Edisi ke-2, B Sumantri, Penerjemah. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Terjemahan dari: *The Principle and Procedure of Statistics*.
- Widiastuti R. 2008. Pemanfaatan Bonggol Pisang Raja Sere (*Musa paradisiaca*) sebagai Bahan Baku Pembuatan Cuka. (Skripsi). FKIP Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Zumamah A, dan Wikandari PR. 2013. Pengaruh waktu fermentasi dan penambahan kultur starter bakteri asam laktat *Lactobacillus plantarum* terhadap mutu bekasam ikan bandeng (*Chanos chanos*). *UNESA J of Chemistry*. 2(3), p.14 – 24.