

Lactic and Acetic Acid Profiles in *Classic Enzyme* on Fermentation Days 7 and 14 Using High-Performance Liquid Chromatography

Profil Asam Laktat dan Asam Asetat dalam *Classic Enzyme* pada Fermentasi Hari ke-7 dan ke-14 Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi

Nadhia Shaqila Dhinia ^{a*}, Anny Sartika Daulay ^a, Ridwanto ^a, Ainil Fithri Pulungan ^a

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan, Sumatera Utara, Indonesia.

*Corresponding Authors: annysartika@umnaw.ac.id

Abstract

Organic acid profiling provides a chemical basis for characterizing fruit fermentation. This study evaluated lactic and acetic acid profiles in *Classic Enzyme* on fermentation days 7 and 14. A descriptive laboratory study used one batch containing 300 g of honey, 900 g of 14 fruit types, and 3,000 mL of boiled drinking water. Qualitative screening, sensory assessment by five panelists, and high-performance liquid chromatography with a C18 column and UV detection at 210 nm were performed. Six analytical determinations were available per sampling day. Mean lactic acid concentrations increased from $0.2216 \pm 0.0191\%$ on day 7 to $0.3178 \pm 0.0561\%$ on day 14, whereas acetic acid concentrations decreased from $2.9293 \pm 0.0966\%$ to $0.6376 \pm 0.0145\%$ (mean $\pm$ sample standard deviation). Mean taste scores on the study-specific eight-point scale were 5.6 and 6.4, respectively. The opposing acid profiles describe this fermentation batch but do not establish a causal effect of fermentation time. Results remain exploratory because the concentration basis, chromatographic specificity, and calibration coverage require verification. These findings provide preliminary information for further analytical and fermentation-process standardization, rather than evidence of product safety or health benefits.

Keywords: *Classic Enzyme; lactic acid; acetic acid; fruit fermentation; high-performance liquid chromatography.*

Abstrak

Profil asam organik memberikan dasar kimia untuk mengarakterisasi fermentasi buah. Penelitian ini mengevaluasi profil asam laktat dan asam asetat dalam *Classic Enzyme* pada fermentasi hari ke-7 dan ke-14. Penelitian laboratorium deskriptif menggunakan satu batch yang terdiri atas 300 g madu, 900 g campuran 14 jenis buah, dan 3.000 mL air minum yang telah dimasak. Pemeriksaan mencakup penapisan kualitatif, penilaian organoleptik oleh lima panelis, serta kromatografi cair kinerja tinggi menggunakan kolom C18 dan deteksi UV pada 210 nm. Tersedia enam penetapan analitik pada setiap waktu pengambilan sampel. Rerata kadar asam laktat meningkat dari $0,2216 \pm 0,0191\%$ pada hari ke-7 menjadi $0,3178 \pm 0,0561\%$ pada hari ke-14, sedangkan kadar asam asetat menurun dari $2,9293 \pm 0,0966\%$ menjadi $0,6376 \pm 0,0145\%$ (rerata $\pm$ simpangan baku sampel). Rerata skor rasa pada skala delapan tingkat yang digunakan dalam penelitian masing-masing sebesar 5,6 dan 6,4. Perbedaan arah profil asam menggambarkan batch yang diamati, tetapi tidak membuktikan pengaruh kausal waktu fermentasi. Temuan ini bersifat eksploratif karena basis konsentrasi, spesifisitas kromatografi, dan cakupan kalibrasi memerlukan verifikasi. Hasil penelitian memberikan informasi awal untuk standardisasi analitik dan proses fermentasi, bukan bukti keamanan atau manfaat kesehatan produk.

Kata kunci: *Classic Enzyme; asam laktat; asam asetat; fermentasi buah; kromatografi cair kinerja tinggi.*



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i3.1856>

Article History:

Received: 23/04/2026,
Revised: 27/08/2026,
Accepted: 29/08/2026,
Available Online: 16/09/2026.

QR access this Article



Pendahuluan

Pengembangan pangan fermentasi memerlukan karakterisasi kimia yang terukur agar komposisi produk dapat dibedakan dari klaim manfaatnya. Kajian pangan fungsional berbasis susu dan pengembangan minuman fermentasi nonsusu menunjukkan keragaman bahan yang dapat dimanfaatkan sebagai matriks pangan [1,2]. Pada bahan nabati, penetapan vitamin C dan aktivitas antioksidan telah dilakukan pada perasan jambu biji kristal serta kombucha daun bidara [3,4]. Namun, parameter tersebut tidak menggantikan pengukuran asam organik yang berhubungan dengan karakter rasa dan perubahan komposisi selama fermentasi [5].

Classic Enzyme merupakan sebutan produk fermentasi campuran buah yang menjadi objek penelitian ini. Harahap et al. mengisolasi bakteri asam laktat dari minuman *Classic Enzyme* dan mengevaluasi aktivitas antibakterinya terhadap *Staphylococcus aureus* [6]. Temuan pada produk tersebut memberikan konteks mikrobiologis, tetapi tidak menetapkan identitas mikroorganisme maupun aktivitas biologis pada setiap formulasi. Perbedaan bahan, penanganan, dan proses fermentasi menuntut karakterisasi tersendiri pada betas yang diteliti.

Fermentasi mengubah substrat melalui aktivitas mikroorganisme dan menghasilkan metabolit yang bergantung pada kondisi proses [7]. Bakteri asam laktat homofermentatif terutama menghasilkan laktat, sedangkan jalur heterofermentatif juga dapat menghasilkan metabolit lain, termasuk asetat. Karena itu, profil masing-masing asam tidak harus berubah dengan arah yang sama. Pemantauan fermentasi sari buah perlu mempertimbangkan keasaman dan pertumbuhan mikroorganisme secara bersamaan, bukan hanya satu metabolit [8]. Penelitian dengan *Lactiplantibacillus plantarum* KABP051 pada sari buah juga memperlihatkan perubahan metabolit selama fermentasi, sehingga perbedaan matriks dan galur mikroba relevan dalam interpretasi hasil [9].

Kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT; high-performance liquid chromatography/HPLC) memungkinkan pemisahan komponen campuran sebelum respons analitiknya diukur [10]. Analisis asam organik pada nira aren menggunakan kolom C18 menjadi rujukan yang lebih dekat dengan matriks fermentasi dibandingkan penerapan KCKT untuk analit lain [11]. Penelitian natrium benzoat pada sirup dan rhodamin B pada bumbu tabur memperlihatkan bahwa kondisi pemisahan dikembangkan untuk pasangan analit-matriks tertentu; kondisi tersebut tidak dapat langsung dianggap sesuai untuk asam organik pada fermentat buah [12,13].

Penelitian ini bertujuan mendeskripsikan kadar asam laktat dan asam asetat serta karakteristik organoleptik *Classic Enzyme* pada fermentasi hari ke-7 dan ke-14. Formulasi yang dikaji terdiri atas 14 jenis buah, madu, dan air. Integrasi hasil analisis kimia dan pengamatan organoleptik digunakan untuk menguraikan perubahan profil fermentat pada kedua waktu pengamatan.

Metode Penelitian

Rancangan, lokasi, dan waktu penelitian

Penelitian laboratorium deskriptif ini dilaksanakan pada Maret–Mei 2025 di Laboratorium Farmasi Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah, Medan. Pengamatan dilakukan terhadap satu betas fermentasi pada hari ke-7 dan ke-14. Pemeriksaan meliputi karakter organoleptik, penapisan kualitatif, dan penetapan asam laktat serta asam asetat dengan HPLC. Enam hasil penetapan pada setiap waktu diberi kode P1–P6 dan diperlakukan sebagai pengulangan analitik, bukan enam betas fermentasi independen.

Bahan, alat, dan pembuatan fermentat

Alat utama meliputi sistem HPLC Rigol dengan detektor UV, spektrofotometer UV-Vis Thermo Scientific, timbangan analitik Mettler Toledo, pH meter Milwaukee, pembersih ultrasonik, toples kaca, dan peralatan gelas laboratorium. Bahan analitik mencakup baku komersial asam laktat dan asam asetat, FeCl_3 , kalium dihidrogen fosfat, asam fosfat, air, membran selulosa nitrat 0,45 μm , dan filter spuit 0,22 μm . Baku asam laktat berupa reagen komersial sekitar 90%, sedangkan baku asam asetat berupa asam asetat glasial; konsentrasi larutan kerja dinyatakan secara nominal sesuai pengenceran yang dilakukan.

Formulasi terdiri atas 300 g madu murni, 900 g buah segar, dan 3.000 mL air minum yang telah dimasak, sehingga perbandingan operasional madu:buah:air adalah 1:3:10 dalam g:g:mL. Campuran buah mencakup nanas, apel, pir, anggur, jeruk, stroberi, semangka merah, semangka kuning, buah naga, mangga, pepaya, jambu, melon, dan belimbing. Pembagian 900 g ke dalam 14 jenis buah setara dengan 64,29 g per jenis, yang dibulatkan menjadi sekitar 64,3 g. Massa total campuran tetap dinyatakan sebesar 900 g sesuai formulasi penelitian.

Buah dikupas, dipotong, dicuci, dan ditiriskan, kemudian dimasukkan ke dalam toples kaca yang telah dibersihkan. Air dan madu ditambahkan, lalu wadah ditutup, dilapisi aluminium foil, dan disimpan di ruangan gelap yang terlindung dari sinar matahari. Pada hari ke-7 dan ke-14, wadah dibuka untuk pelepasan gas dan pengambilan sampel. Sampel disaring menggunakan kertas saring sebelum pemeriksaan lebih lanjut.

Penilaian organoleptik

Lima panelis menilai aroma, warna, tekstur, dan rasa sampel pada hari ke-7 dan ke-14 menggunakan formulir dengan delapan kategori. Penilaian organoleptik mengacu pada pendekatan pengamatan atribut pangan fermentasi yang digunakan dalam sumber metode [14], dengan kategori khusus produk pada penelitian ini. Skor aroma berkisar dari 1 (sangat busuk) hingga 8 (bau khas yang menarik selera), warna dari 1 (sangat tidak menarik) hingga 8 (sangat menarik sekali), tekstur dari 1 (sangat kental) hingga 8 (cair sekali), dan rasa dari 1 (tidak enak) hingga 8 (sangat enak sekali). Kategori antara pada atribut rasa juga memuat deskripsi keasaman. Skor dianalisis secara deskriptif dan tidak diperlakukan sebagai skala intensitas asam yang tervalidasi.

Penapisan kualitatif asam organik

Untuk penapisan laktat, sebanyak 0,9 mL filtrat dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, ditambah 1 mL FeCl_3 0,2% b/v, kemudian diencerkan dengan akuades hingga tanda batas. Larutan diperiksa pada rentang 360–440 nm pada suhu ruang. Pendekatan reaksi FeCl_3 juga digunakan dalam penelitian produksi asam laktat oleh Amir et al. [15]. Metode spektrofotometri laktat dengan FeCl_3 yang dikembangkan Borshchevskaya et al. menggunakan pembacaan sekitar 390 nm, sehingga rentang pemindaian penelitian ini mencakup daerah tersebut [16]. Penapisan asetat dilakukan dengan menambahkan FeCl_3 pada filtrat dan mengamati perubahan warna merah kecokelatan, sebagaimana pendekatan reaksi warna pada penelitian fermentasi bahan buah [17].

Fase gerak, larutan baku, dan kondisi HPLC

Fase gerak berupa dapar fosfat 50 mM dibuat dengan melarutkan 6,8 g kalium dihidrogen fosfat dalam sekitar 900 mL air. pH diatur menjadi 2,8 menggunakan asam fosfat, kemudian volume dicukupkan hingga 1.000 mL. Larutan disaring melalui membran selulosa nitrat 0,45 μm dan didegas menggunakan pembersih ultrasonik. Komposisi dapar mengacu pada analisis asam organik dengan HPLC fase terbalik [11]. Pemisahan menggunakan kolom silika C18, laju alir 1 mL/menit, volume injeksi 20 μL , dan deteksi UV pada 210 nm.

Larutan induk masing-masing baku dibuat dengan memipet 10 mL reagen komersial ke dalam labu ukur 100 mL dan menambahkan dapar fosfat hingga tanda batas. Larutan ini memiliki konsentrasi nominal 10% v/v terhadap reagen komersial yang dipipet. Larutan kerja nominal 2% diperoleh melalui pengenceran 1 mL larutan induk menjadi 5 mL. Untuk kalibrasi, aliquot 0,50; 0,75; 1,00; 1,25; dan 1,50 mL larutan induk masing-masing diencerkan hingga 5 mL sehingga menghasilkan konsentrasi nominal 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; dan 3,0%. Larutan disaring melalui filter spuit 0,22 μm sebelum injeksi. Respons kalibrasi berupa luas area puncak, bukan absorbansi tunggal.

Preparasi sampel dan pengolahan data

Sebanyak 1 mL filtrat sampel diencerkan dengan dapar fosfat 50 mM hingga volume 5 mL, dihomogenkan, dan disaring melalui filter spuit 0,22 μm . Larutan diinjeksikan pada kondisi HPLC yang sama dengan larutan baku. Perhitungan menggunakan model kalibrasi melalui titik asal, $A = bC$, dengan A sebagai

luas area puncak, b sebagai kemiringan, dan C sebagai konsentrasi larutan yang diinjeksikan. Kadar dalam filtrat dihitung menggunakan $C_{\text{filtrat}} = (A/b) \times 5$, dengan 5 sebagai faktor pengenceran. Kadar dilaporkan dalam persen berdasarkan skala konsentrasi nominal baku yang disiapkan secara volumetrik dari reagen komersial.

Data P1–P6 diringkas sebagai rerata, simpangan baku sampel (SD; penyebut $n - 1$), dan koefisien variasi (KV = $SD/\text{rerata} \times 100\%$). Perubahan relatif dihitung terhadap rerata hari ke-7. Koefisien korelasi Pearson dihitung ulang dari lima pasangan konsentrasi nominal–luas area untuk masing-masing baku dan dibedakan dari pemilihan model garis melalui titik asal. Skor organoleptik disajikan sebagai rerata serta median dan rentang. Analisis inferensial antar-bets tidak dilakukan karena rancangan hanya mendokumentasikan satu bets fermentasi.

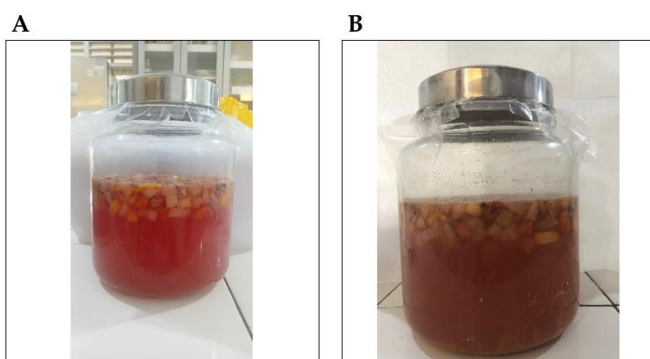
Hasil dan Pembahasan

Karakteristik fermentat dan penilaian organoleptik

Cairan fermentasi berwarna merah keruh pada hari ke-7 dan berubah menjadi merah kecokelatan pada hari ke-14. Setelah penyaringan, filtrat pada kedua waktu tampak merah muda jernih. Rerata skor aroma berubah dari 6,8 menjadi 7,0, warna dari 6,6 menjadi 6,8, tekstur dari 7,2 menjadi 7,0, dan rasa dari 5,6 menjadi 6,4 (Tabel 1). Median skor tekstur sebesar 7 pada kedua waktu menunjukkan dominasi deskripsi cair. Perubahan rerata skor rasa tidak dapat diartikan sebagai peningkatan keasaman, karena kategorinya sekaligus memuat kesukaan dan sifat rasa. Kenampakan fermentat pada kedua waktu pengamatan ditampilkan pada Gambar 1.

Tabel 1. Ringkasan skor organoleptik *Classic Enzyme* pada lima panelis

Atribut	Rerata hari ke-7	Median (rentang) hari ke-7	Rerata hari ke-14	Median (rentang) hari ke-14
Aroma	6,8	7 (6–7)	7,0	7 (6–8)
Warna	6,6	7 (6–7)	6,8	7 (6–8)
Tekstur	7,2	7 (7–8)	7,0	7 (7–7)
Rasa	5,6	5 (4–7)	6,4	7 (5–8)



Gambar 1. Fermentat *Classic Enzyme* pada (A) hari ke-7 dan (B) hari ke-14.

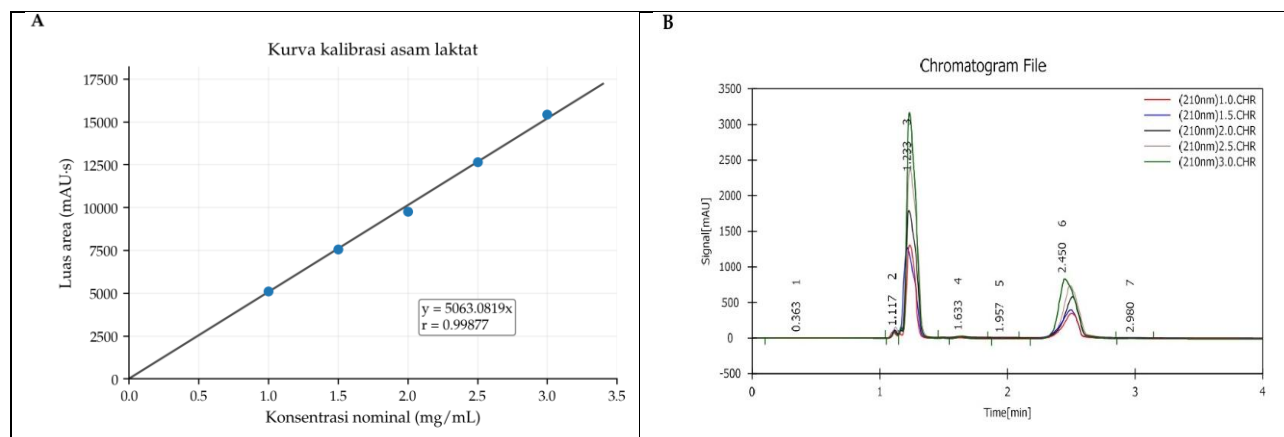
Penapisan dan keterbatasan identifikasi

Penapisan menunjukkan respons serapan setelah penambahan FeCl_3 pada rentang 360–440 nm serta perubahan warna merah kecokelatan pada uji asetat. Kedua respons memberikan indikasi awal keberadaan asam organik, tetapi belum merupakan identifikasi spesifik pada matriks buah. Pengukuran senyawa lain dengan UV–Vis, seperti tanin dan β -karoten, menggunakan sistem reaksi atau kondisi analitik yang berbeda [18,19]. Oleh karena itu, hasil penapisan perlu ditafsirkan bersama pemisahan kromatografis dan perbandingan terhadap baku. Kurva kalibrasi dan kromatogram baku asam laktat disajikan pada Gambar 2A–B, sedangkan hasil untuk asam asetat disajikan pada Gambar 3A–B. Kromatogram sampel pada kedua waktu pengamatan ditampilkan pada Gambar 4.

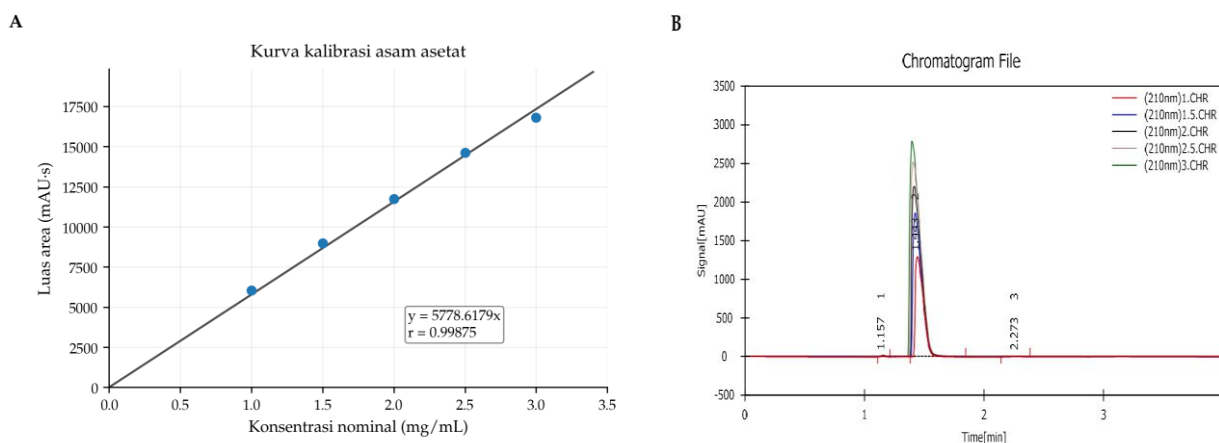
Respons kalibrasi dan cakupan pengukuran

Luas area puncak meningkat seiring kenaikan konsentrasi baku pada lima tingkat kalibrasi (Gambar 2A dan 3A). Model regresi melalui titik asal menghasilkan persamaan $A = 5.063,08C$ untuk asam laktat dan $A =$

5.778,62C untuk asam asetat. Koefisien korelasi Pearson yang dihitung dari pasangan konsentrasi–respons masing-masing sebesar 0,99877 dan 0,99875. Hubungan tersebut menunjukkan asosiasi yang kuat antara konsentrasi baku dan respons detektor, tetapi belum mencakup evaluasi akurasi, presisi, batas kuantifikasi, maupun kesesuaian model pada konsentrasi sampel.



Gambar 2. Kalibrasi asam laktat: (A) kurva hubungan konsentrasi baku dengan luas area puncak menggunakan regresi melalui titik asal; (B) kromatogram tumpang tindih lima tingkat baku pada panjang gelombang 210 nm.

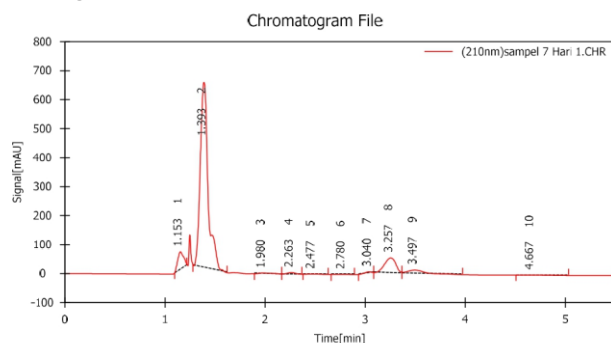
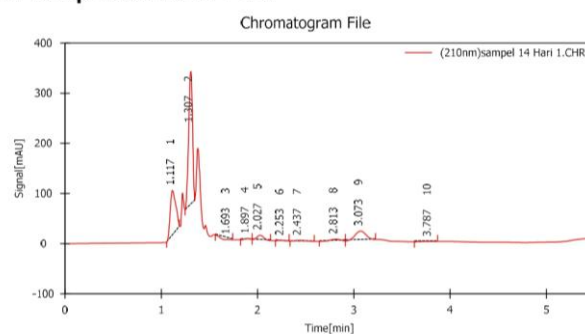


Gambar 3. Kalibrasi asam asetat: (A) kurva hubungan konsentrasi baku dengan luas area puncak menggunakan regresi melalui titik asal; (B) kromatogram tumpang tindih lima tingkat baku pada panjang gelombang 210 nm.

Luas area puncak seluruh sampel berada di bawah respons baku terendah. Konsentrasi larutan yang diinjeksikan, setelah faktor pengenceran diperhitungkan, berada pada kisaran 0,0381–0,0777% untuk laktat dan 0,1248–0,6050% untuk asetat, sedangkan konsentrasi baku terendah sebesar 1,0%. Dengan demikian, kadar diperoleh melalui ekstrapolasi di bawah rentang kalibrasi dan masih bersifat estimatif. Keterbatasan ini tidak dapat diatasi hanya dengan tingginya koefisien korelasi; kesesuaian rentang, selektivitas, akurasi, dan presisi tetap menjadi bagian penting evaluasi kinerja analitik [20].

Kadar asam organik

Kadar asam laktat meningkat dari $0,2216 \pm 0,0191\%$ pada hari ke-7 menjadi $0,3178 \pm 0,0561\%$ pada hari ke-14. Sebaliknya, kadar asam asetat menurun dari $2,9293 \pm 0,0966\%$ menjadi $0,6376 \pm 0,0145\%$. Hasil setiap pengulangan disajikan pada Tabel 2, sedangkan ringkasan statistik ditampilkan pada Tabel 3. Perubahan relatif rerata masing-masing sebesar +43,44% dan -78,23%. Kedua perubahan tersebut menggambarkan profil satu betas fermentasi dan tidak menunjukkan besarnya efek waktu fermentasi yang telah diuji secara inferensial.

A Sampel hari ke-7 – P1**B Sampel hari ke-14 – P1**

Gambar 4. Kromatogram sampel *Classic Enzyme* pada 210 nm: (A) hari ke-7 dan (B) hari ke-14, masing-masing pada pengulangan P1. Angka di dekat puncak menunjukkan waktu retensi dalam menit. Skala sumbu sinyal berbeda pada kedua panel.

Tabel 2. Kadar asam organik pada setiap pengulangan analitik

Ulangan	Laktat hari ke-7 (%)	Laktat hari ke-14 (%)	Asetat hari ke-7 (%)	Asetat hari ke-14 (%)
P1	0,2465	0,3556	3,0248	0,6326
P2	0,2151	0,3887	2,8122	0,6305
P3	0,2335	0,3368	2,9573	0,6240
P4	0,2267	0,3207	3,0173	0,6271
P5	0,2172	0,2385	2,9560	0,6530
P6	0,1904	0,2667	2,8085	0,6586

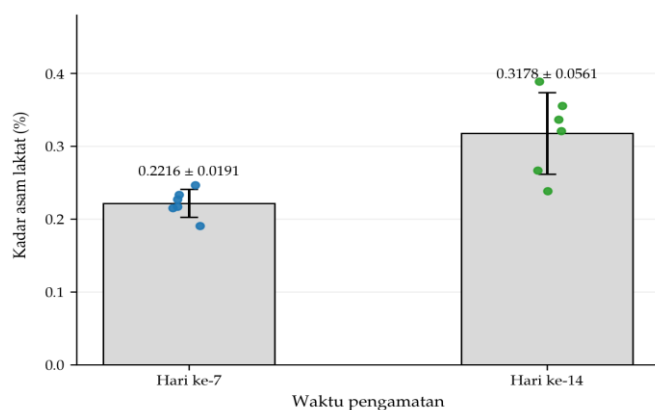
P1–P6 merupakan pengulangan analitik dari betas yang sama pada setiap waktu pengamatan.

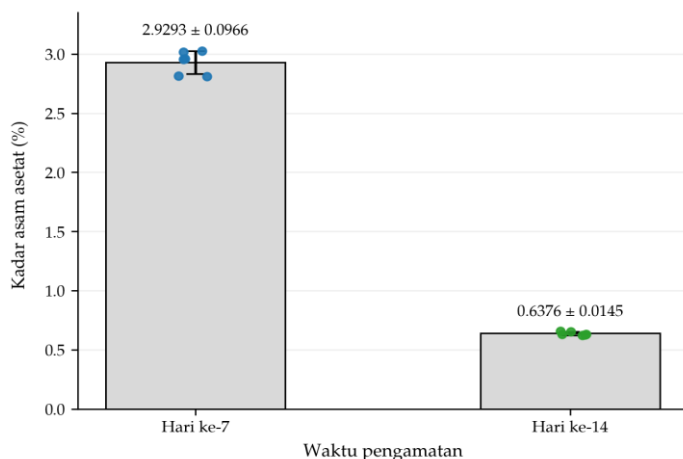
Tabel 3. Ringkasan statistik kadar asam organik

Analit	Hari	Rerata $\pm$ SD (%)	KV (%)
Asam laktat	7	$0,2216 \pm 0,0191$	8,61
Asam laktat	14	$0,3178 \pm 0,0561$	17,65
Asam asetat	7	$2,9293 \pm 0,0966$	3,30
Asam asetat	14	$0,6376 \pm 0,0145$	2,27

n = 6 pengulangan analitik per analit dan waktu; SD = simpangan baku sampel ($n - 1$); KV = koefisien variasi. SD menggambarkan sebaran pengulangan yang tersedia dan bukan ketidakpastian pengukuran lengkap.

Koefisien variasi kadar laktat meningkat dari 8,61% pada hari ke-7 menjadi 17,65% pada hari ke-14, sedangkan koefisien variasi kadar asetat masing-masing sebesar 3,30% dan 2,27%. Variasi antarpengulangan dapat berkaitan dengan homogenitas alikuot, preparasi sampel, integrasi puncak, atau respons pengukuran yang rendah. Kontribusi masing-masing faktor tidak dapat dipisahkan tanpa evaluasi presisi yang lebih terarah. Rerata, simpangan baku, dan hasil individual pada Gambar 5 dan 6 memperlihatkan arah perubahan kadar sekaligus sebaran pengulangannya.

**Gambar 5.** Kadar asam laktat pada hari ke-7 dan ke-14.



Gambar 6. Kadar asam asetat pada hari ke-7 dan ke-14.

Interpretasi perubahan asam dan perbandingan penelitian

Peningkatan kadar laktat sejalan dengan hipotesis akumulasi produk metabolisme fermentatif, tetapi tidak membuktikan bahwa bakteri asam laktat tertentu menjadi penyebabnya. Pada sistem fermentasi terkendali, produksi laktat dipengaruhi oleh jenis dan pasokan substrat, sebagaimana ditunjukkan pada media kombinasi limbah tahu-mangga dan fermentasi molase [15,21]. Penelitian sari buah dengan *L. plantarum* KABP051 juga menunjukkan konversi malat selama fermentasi [9]. Pada penelitian ini, konsentrasi gula, malat, jumlah mikroba, dan identitas galur tidak ditentukan, sehingga jalur pembentukan laktat tidak dapat dibedakan secara langsung.

Penurunan kadar asetat tidak bertentangan dengan sifat fermentasi sebagai proses dinamis. Secara konseptual, konsentrasi yang terukur mencerminkan neraca pembentukan, pemanfaatan, dan kehilangan komponen, bukan produksi saja. Pembentukan asetat melalui oksidasi etanol oleh bakteri asam asetat merupakan jalur yang berbeda dari pembentukan asetat melalui fermentasi heterolaktat; ketersediaan oksigen menentukan relevansi jalur oksidatif tersebut. Penelitian pembuatan asam cuka dari bahan buah memperlihatkan pentingnya tahapan fermentasi dan substrat alkohol [17]. Pada wadah yang ditutup dan dibuka saat pengambilan sampel, kondisi oksigen tidak dapat disimpulkan hanya dari istilah anaerob dalam prosedur.

Hilangnya komponen volatil saat pelepasan gas, perubahan metabolisme komunitas mikroba, atau perubahan distribusi asam ke komponen lain dapat dipertimbangkan sebagai hipotesis untuk penelitian lanjutan. Namun, persoalan rentang kalibrasi dan atribusi puncak merupakan penjelasan analitik yang juga harus diperiksa terlebih dahulu. Dua waktu pengamatan tanpa data awal hari ke-0 tidak memadai untuk menyusun kurva kinetika, menentukan waktu panen optimum, atau menilai keseluruhan keberhasilan fermentasi.

Perbedaan komposisi bahan dan metode analisis membatasi keterbandingan kadar asam organik antarproduk fermentasi. Pada nira aren, Limo et al. [11] melaporkan kadar asam laktat dan asam asetat pada sampel A masing-masing sebesar 0,104 dan 0,002 g/100 mL menggunakan HPLC fase terbalik. Pada fermentasi kulit pisang raja uli dengan penambahan air ampas tebu, Nurhasanah dan Octarya [17] memperoleh kadar asam cuka tertinggi sebesar 0,063 g/100 mL melalui analisis alkalimetri. Nilai-nilai tersebut memberikan konteks bagi keragaman komposisi asam pada bahan fermentasi, tetapi tidak dapat dibandingkan langsung dengan hasil *Classic Enzyme* karena perbedaan matriks, dasar satuan kadar, dan selektivitas pengukuran. Hasil alkalimetri mencerminkan keasaman yang dapat dititrasi, sedangkan HPLC mengevaluasi respons puncak yang dipisahkan secara kromatografis.

Penggunaan kultur terpilih juga membedakan fermentasi terkendali dari sistem dengan komunitas mikroba yang belum dikarakterisasi. Rizzi et al. [9] menunjukkan perubahan metabolit dan konversi malat selama fermentasi sari buah oleh *Lactiplantibacillus plantarum* KABP051. Pada *Classic Enzyme*, campuran 14 jenis buah dan madu memberikan komposisi substrat yang berbeda, sementara identitas mikroorganisme dan perubahan metabolit antara belum ditentukan. Oleh karena itu, peningkatan kadar laktat dan penurunan kadar asetat pada penelitian ini menggambarkan profil kimia pada kondisi fermentasi yang diamati, bukan bukti kesamaan jalur metabolisme atau perbedaan efisiensi fermentasi terhadap sistem yang menggunakan kultur terpilih.

Rasa asam dan perubahan penilaian organoleptik memberikan konteks sensori, tetapi tidak mengidentifikasi asam tertentu. Kontribusi rasa dipengaruhi oleh jenis asam dan komposisi keseluruhan pangan [5]. Peningkatan skor rasa dari 5,6 menjadi 6,4 terjadi bersamaan dengan peningkatan kadar laktat dan penurunan kadar asetat, tetapi pola tersebut tidak membuktikan hubungan sebab akibat. Skala yang mencampurkan kesukaan dengan keasaman serta jumlah panelis yang terbatas membatasi penarikan kesimpulan mengenai penerimaan konsumen.

Keterbatasan dan implikasi penelitian

Interpretasi hasil dibatasi oleh penggunaan satu betas fermentasi, dua waktu pengamatan tanpa data awal, serta penilaian organoleptik oleh lima panelis dengan skala khusus penelitian. Pada aspek analitik, ketidakselarasan satuan pada preparasi baku dan keluaran instrumen, ekstrapolasi respons sampel di bawah rentang kalibrasi, dan selektivitas puncak membatasi ketepatan penetapan kadar. Oleh karena itu, hasil ini merupakan karakterisasi awal dan belum menjadi dasar penetapan spesifikasi mutu akhir.

Implikasi praktisnya adalah kebutuhan mengintegrasikan standardisasi analitik dengan pengendalian proses fermentasi. Penelitian lanjutan perlu menggunakan kalibrasi yang mencakup sampel, perbandingan puncak dengan baku dalam matriks, beberapa betas independen, dan pengamatan pH, gula, etanol, serta mikroorganisme sepanjang fermentasi. Klaim probiotik atau manfaat klinis tidak dapat diturunkan dari kadar asam organik saja. Pedoman AGA menilai penggunaan probiotik menurut sediaan dan konteks klinisnya, bukan semata-mata keberadaan fermentasi atau metabolit asam [22]. Dengan demikian, pengujian keamanan dan aktivitas fungsional merupakan tahapan tersendiri sebelum pengembangan klaim produk.

Kesimpulan

Pada satu betas *Classic Enzyme* yang diamati, kadar laktat meningkat dari $0,2216 \pm 0,0191\%$ pada hari ke-7 menjadi $0,3178 \pm 0,0561\%$ pada hari ke-14, sedangkan asetat menurun dari $2,9293 \pm 0,0966\%$ menjadi $0,6376 \pm 0,0145\%$. Perbedaan arah tersebut menunjukkan bahwa perkembangan profil fermentasi tidak dapat diwakili oleh asumsi kenaikan seluruh asam secara seragam. Akan tetapi, keterbatasan basis konsentrasi, rentang kalibrasi, dan identifikasi puncak menjadikan hasil ini eksploratif. Kontribusi penelitian adalah profil awal untuk perancangan standardisasi analitik dan pengamatan fermentasi lanjutan, bukan penetapan waktu panen optimum, keamanan konsumsi, atau manfaat kesehatan.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan bahwa tidak terdapat konflik kepentingan dalam penelitian maupun penyusunan naskah ini.

Referensi

- [1] Suciati F, Safitri LS. Pangan fungsional berbasis susu dan produk turunannya. *Journal of Sustainable Research in Management of Agroindustry* 2021;1:13–9. <https://doi.org/10.35970/surimi.v1i1.535>.
- [2] Sampurno A, Cahyanti AN, Gunantar DA. Minuman kesehatan produk fermentasi non susu untuk meningkatkan imun dimasa pandemi bagi guru SMAN 15 Kota Semarang. *Madaniya* 2021;2:115–20. <https://doi.org/10.53696/27214834.62>.
- [3] Melinda R, Daulay AS, Ridwanto, Nasution MA. Penetapan kadar vitamin C dan aktivitas antioksidan hasil perasan buah jambu biji kristal. *Indones J Pharm Educ* 2024;4:438–49. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v4i3.28891>.
- [4] Siagian AY, Yuniarti R, Daulay AS, Pulungan AF. Kandungan vitamin C dan uji aktivitas antioksidan teh herbal kombucha daun bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam). *J Pharm Sci* 2025;8:1004–17. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.880>.
- [5] Shi Y, Pu D, Zhou X, Zhang Y. Recent progress in the study of taste characteristics and the nutrition and health properties of organic acids in foods. *Foods* 2022;11:3408. <https://doi.org/10.3390/foods11213408>.

- [6] Harahap SS, Ridwanto, Daulay AS, Rahayu YP. Isolasi dan uji aktivitas antibakteri bakteri asam laktat pada minuman classic enzyme berbagai macam buah terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. PREPOTIF J Kesehat Masy 2024;8:5647–57. <https://doi.org/10.31004/prepotif.v8i3.32917>.
- [7] Apriyanto M, Fangohoi L, Aprilia V, Diba DF, Prayitno SH, Nurhayati N, et al. Pangan berbasis fermentasi. Yogyakarta: Nuta Media; 2021.
- [8] Regatieri L, Vitalis F, Bujna E, Nguyen QD, Kovacs Z. Data-driven monitoring of probiotic fermentation in fruit juices using near-infrared spectroscopy and aquaphotomics: an innovative approach to food valorization. Foods 2025;14:1274. <https://doi.org/10.3390/foods14071274>.
- [9] Rizzi F, Juan B, Espadaler-Mazo J, Capellas M, Huedo P. *Lactiplantibacillus plantarum* KABP051: stability in fruit juices and production of bioactive compounds during their fermentation. Foods 2024;13:3851. <https://doi.org/10.3390/foods13233851>.
- [10] Rubiyanto D. Metode kromatografi: prinsip dasar, praktikum dan pendekatan pembelajaran kromatografi. Yogyakarta: Deepublish; 2017.
- [11] Limo SR, Pontoh JS, Wuntu AD. Analisis beberapa asam organik pada nira aren menggunakan HPLC fasa terbalik kolom YMC Triart C18. Jurnal MIPA 2015;4:51–6. <https://doi.org/10.35799/jm.4.1.2015.6905>.
- [12] Santasa Z, Pulungan AF. Optimasi fase gerak dan analisis kadar natrium benzoat pada beberapa sirup rasa jeruk dengan metode kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT). Sasambo J Pharm 2024;5:97–100. <https://doi.org/10.29303/sjp.v5i2.372>.
- [13] Munthe A, Daulay AS, Ridwanto, Pulungan AF. Penetapan kadar rhodamin B pada bumbu tabur dengan metode KLT dan KCKT. J Pharm Sci 2025;8:642–52. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i2.845>.
- [14] Restu. Mutu organoleptik wadi ikan patin (*Pangasius* sp) selama penyimpanan di dalam air. J Ilmu Hewani Tropika 2019;8:98–103.
- [15] Amir M, Sopiattunnisa N, Abna IM. Produksi asam laktat oleh *Lactobacillus acidophilus* dalam media fermentasi kombinasi limbah cair tahu dan mangga (*Mangifera indica* L.). J Ilm Farmako Bahari 2024;15:25–36. <https://doi.org/10.52434/jifb.v15i1.2918>.
- [16] Borshchevskaya LN, Gordeeva TL, Kalinina AN, Sineokii SP. Spectrophotometric determination of lactic acid. J Anal Chem 2016;71:755–8. <https://doi.org/10.1134/S1061934816080037>.
- [17] Nurhasanah, Octarya Z. Synthesis of vinegar acid with Raja Uli banana peel (*Musa paradiaca*) by adding bagasse water (*Saccharum officinarum*). Indones J Chem Sci Technol 2018;1:17–22. <https://doi.org/10.24114/ijcst.v1i1.10189>.
- [18] Hasibuan PY, Daulay AS, Ridwanto, Pulungan AF. Penetapan kadar tanin daun mangkokan (*Polyscias scutellaria* (Burm.f.) Fosberg) dan daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) secara spektrofotometri UV-Visible. J Pharm Sci 2025;8:3048–57. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v8i4.972>.
- [19] Damanik S, Daulay AS, Ridwanto, Harun FR. UV-Vis quantification of β -carotene in spinach under raw and boiled conditions. Indones J Pharm Educ 2025;5:302–10. <https://doi.org/10.37311/ijpe.v5i3.32374>.
- [20] International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use. ICH harmonised guideline: validation of analytical procedures Q2(R2). Geneva: ICH; 2023.
- [21] Rahmayetty, Kanani N, Fauziah I, Ukhdiya N. Pengaruh laju pembebanan substrat terhadap produksi asam laktat berbahan baku molase. J Integrasi Proses 2019;8:76–81.
- [22] Su GL, Ko CW, Bercik P, Falck-Ytter Y, Sultan S, Weizman AV, et al. AGA clinical practice guidelines on the role of probiotics in the management of gastrointestinal disorders. Gastroenterology 2020;159:697–705. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.05.059>.