

Pengaruh Perbedaan Konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v)

Terhadap Kualitas Nata de Seaweed dari

Limbah Perebusan *Semi Refined Carrageenan*

Eucheuma cottonii

Laporan Skripsi

Manajemen Sumber Daya Perairan

Teknologi Hasil Perikanan

Amrul Hasani

0110830004



Fakultas Perikanan

Universitas Brawijaya

Malang

2007

Pengaruh Perbedaan Konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v)

Terhadap Kualitas Nata de Seaweed dari

Limbah Perebusan *Semi Refined Carrageenan*

Eucheuma cottonii

Laporan Skripsi Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Perikanan pada Fakultas Perikanan
Universitas Brawijaya

Oleh :

Amrul Hasani

011083000

Dosen Penguji I

Prof. DR. Ir. T.J. Moedjiharto, M.App.Sc.

Tanggal :

Dosen Penguji II

Rahmi Nurdiani, SPi, M.App.Sc.

Tanggal :

Menyetujui

Dosen Pembimbing I

Ir. Dwi Setijawati, MKes

Tanggal :

Dosen Pembimbing II

Ir. Hartati Kartikaningsih, MS

Tanggal :

Mengetahui,

Ketua Jurusan MSP

Ir. Maheno Sri Widodo, MS

Tanggal :

RINGKASAN

AMRUL HASANI. Penelitian Tentang Pengaruh Perbedaan Konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v) Terhadap Kualitas Nata de Seaweed dari Limbah Perebusan *Semi Refined Carrageenan Eucheuma cottonii*. Dibawah Bimbingan Ir. Dwi Setijawati, MKes dan Ir. Hartati Kartikaningsih, MS.

Limbah air perebusan pada pembuatan SRC (*Semi Refined Carrageenan*) *Eucheuma cottonii* yang selama ini menjadi masalah lingkungan, mempunyai potensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku nata. Nata merupakan selulosa bakteri yang dihasilkan melalui proses fermentasi, yang melibatkan aktifitas bakteri *Acetobacter xylinum*.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya, pada bulan November 2006 sampai dengan April 2007. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh penggunaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v) yang berbeda terhadap kualitas nata de seaweed dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottonii*.

Metode dari penelitian ini adalah eksperimen dengan perlakuan penggunaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* yang berbeda (7,5 %, 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, dan 22,5%). Penelitian dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan 3 kali ulangan. Parameter uji yang digunakan adalah kadar air, ketebalan, berat, rendemen, tekstur, serat kasar, jumlah bakteri akhir, DO, dan pH. Sedangkan sebagai penunjang dilakukan pengamatan terhadap perlakuan terbaik yang meliputi pengamatan densitas bakteri, pH, DO, penambahan ketebalan dan berat, gula reduksi, dan total N selama masa inkubasi, derajat kristalinitas produk nata, dan kadar logam berat seperti Pb dan Hg.

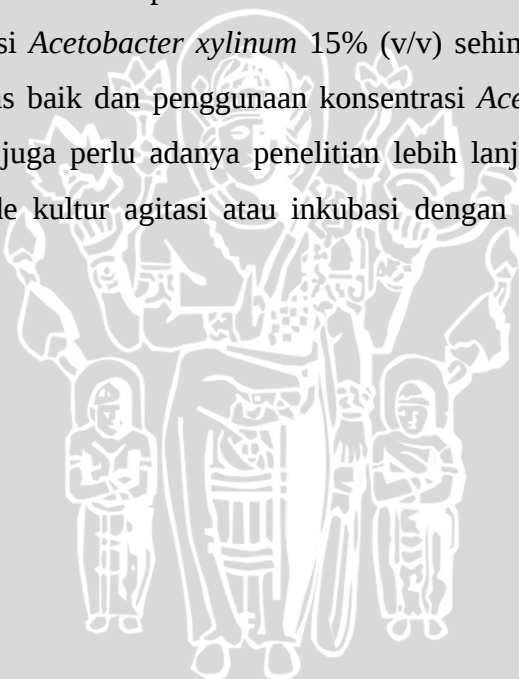
Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* yang berbeda (v/v) terhadap media fermentasi nata de seaweed menunjukkan nilai beda nyata terhadap ketebalan dan rendemen yang diukur berdasarkan uji Kruskal-Wallis, berpengaruh nyata kadar air dan serat kasar, dan berpengaruh yang sangat nyata pada tekstur, konsentrasi rata-rata bakteri akhir, pH dan DO cairan sisa fermentasi.

Perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan penggunaan starter 15 % yang menghasilkan nata limbah SRC dengan karakteristik produk meliputi kadar air 91,79%,

ketebalan 25,61 mm, rendemen 57,88 %, serat kasar 4,88 %, tekstur 0,017 mm/g.det, derajat Kristalinitas selulosa bakteri sebesar 25,19 % dan kadar logam berat dalam nata yang meliputi Pb (timbal) dan Hg (Merkuri) adalah sebesar 0,03 ppm dan 0,00 ppm.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa dalam media pertumbuhan yang berasal dari limbah perebusan *Semi Refined Carrageenan* (SRC), bakteri *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh dengan normal dan menghasilkan nata atau selulosa bakteri. Pertumbuhan puncak bakteri tercapai setelah hari ke- 6 fermentasi dan pembentukan nata mulai terjadi pada hari ke-4. Selain itu diketahui bahwa setelah hari ke-12 pada media fermentasi masih terdapat sisa gula reduksi dan nitrogen.

Disarankan agar dilakukan pembuatan nata dari limbah perebusan SRC menggunakan konsentrasi *Acetobacter xylinum* 15% (v/v) sehingga dihasilkan nata de seaweed yang berkualitas baik dan penggunaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v) yang efektif. Selain itu juga perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang penggunaan media SRC pada metode kultur agitasi atau inkubasi dengan suplai udara (oksigen) secara terus menerus.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan Rahmat, Hidayat, Ridho, dan Inayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian sampai dengan penulisan laporan skripsi. Laporan ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana perikanan di Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang.

Atas terselesaikannya laporan skripsi ini, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Ir. Dwi Setijawati, MKes, selaku dosen pembimbing I.
2. Ir. Hartati Kartikaningsih, MS, selaku dosen pembimbing II.
3. Bapak, Ibu, Adik dan semua keluarga.
4. Semua pihak yang telah memberikan dorongan dan bantuan sehingga dapat tersusunnya laporan skripsi ini.

Akhirnya penulis berharap semoga laporan ini bermanfaat dan dapat memberikan informasi bagi semua pihak yang berminat dan memerlukan.

Malang, September 2007

Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
1. PENDAHULUAN.....	1
1.1.Latar Belakang	1
1.2.Identifikasi Masalah.....	4
1.3.Hipotesa	6
1.4.Tujuan Penelitian	6
1.5.Manfaat Penelitian	6
1.6.Tempat dan Waktu Penelitian	6
2. TINJAUAN PUSTAKA.....	7
2.1. Karaginan Semi Murni.....	7
2.2. Nata	9
2.3. Bakteri Pembentuk Nata	10
2.4. Biosintesis Selulosa.....	11
2.5. Fermentasi dan Faktor- Faktor yang Mempengaruhinya.....	13
2.5.1. Sumber Karbon	13
2.5.2. Oksigen (O ₂)	14
2.5.3. Sumber Nitrogen	15
2.5.4. Nutrien Lainnya	15
2.5.5. pH medium fermentasi.....	16
2.5.6. Suhu	17
2.5.7. Inokulum	17
3. MATERI DAN METODE.....	19
3.1. Materi Penelitian	19
3.1.1. Bahan Penelitian.....	19
3.1.2. Peralatan penelitian.....	19
3.2. Metode Penelitian	20

3.3. Rancangan percobaan.....	20
3.4. Variabel.....	21
3.5. Prosedur Penelitian	21
3.6. Pembuatan Nata de Seaweed	23
3.7. Parameter Uji	24
3.8. Analisa Data.....	25
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1. Data Hasil Penelitian	26
4.2. Parameter Kualitas Nata de Seaweed.....	26
4.2.1. Ketebalan	26
4.2.2. Rendemen.....	28
4.2.3. Kadar air	30
4.2.4. Serat Kasar	33
4.2.5. Tekstur	35
4.3. Perubahan pada Media Sisa Nata de Seaweed.....	37
4.3.1. pH.....	38
4.3.2. DO	40
4.3.3. Konsentrasi Bakteri pada Akhir Fermentasi	42
4.4. Penentuan Perlakuan Terbaik.....	45
4.5. Kualitas Produk Selulosa pada Perlakuan Terbaik	46
4.5.1. Derajat Kristalinitas	46
4.5.2. Logam Berat (Pb dan Hg)	47
4.6. Analisa Deskriptif terhadap Perlakuan Terbaik	48
4.6.1. Laju Pertumbuhan Bakteri	48
4.6.2. pH	50
4.6.3. DO (<i>Dissolved Oxygen</i>) atau Oksigen terlarut.....	52
4.6.4. Hubungan Laju Pertumbuhan Bakteri terhadap Produksi Nata	53
4.6.5. Hubungan Laju pertumbuhan bakteri terhadap Kadar Nitrogen.....	56
4.6.6. Hubungan Laju pertumbuhan Bakteri terhadap Kadar Gula Reduksi	59
5. KESIMPULAN DAN SARAN	61
5.1. Kesimpulan	61
5.2. Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA	63
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Alur Pembuatan SRC	8
2. Selulosa (Anonymous, 2006b)	12
3. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan ketebalan nata	28
4. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan rendemen nata	30
5. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan kadar air nata	32
6. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan serat kasar nata	34
7. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan tekstur nata	37
8. Grafik hubungan konsentrasi starter (v/v) dengan pH akhir media nata	39
9. Grafik hubungan antara konsentrasi starter dengan kadar DO	41
10. Grafik hubungan konsentrasi starter (v/v) dengan konsentrasi bakteri akhir pada media fermentasi nata	44
11. Grafik laju pertumbuhan bakteri <i>Acetobacter xylinum</i> dalam media fermentasi dari limbah SRC	49
12. Grafik perubahan pH media fermentasi dari limbah SRC	51
13. Grafik perubahan DO media fermentasi dari limbah SRC	53
14. Grafik penambahan ketebalan nata de seaweed selama masa fermentasi	55
15. Grafik penambahan berat nata de seaweed selama masa fermentasi	55
16. Grafik hubungan penambahan ketebalan dan berat nata de seaweed	56
17. Grafik kadar nitrogen selama masa fermentasi nata de seaweed	58
18. Grafik kadar gula reduksi selama masa fermentasi nata de seaweed	60
19. Grafik Difraktogram Sinar X	102

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil uji pada penelitian pendahuluan	22
2. Kualitas nata de seaweed	26
3. Rata-rata ketebalan nata de seaweed.....	27
4. Rata-rata rendemen nata de seaweed	29
5. Rata-rata kadar air nata de seaweed	31
6. Rata-rata kadar serat kasar nata de seaweed	33
7. Rata-rata tekstur nata de seaweed	35
8. Perubahan pada media sisa nata de seaweed.....	38
9. Rata-rata pH media sisa fermentasi nata de seaweed.....	38
10. Rata-rata DO media sisa fermentasi nata de seaweed.....	40
11. Konsentrasi rata-rata bakteri pada media sisa fermentasi nata de seaweed	43
12. Karakteristik nata de seaweed pada perlakuan terbaik	45
13. Kualitas selulosa pada perlakuan terbaik	46
14. Data pengamatan laju pertumbuhan bakteri <i>Acetobacter xylinum</i> dalam media fermentasi dari limbah SRC	49
15. Data pengamatan perubahan pH, dan suhu media fermentasi nata.....	51
16. Data pengamatan perubahan DO dan suhu media fermentasi nata.....	52
17. Pertambahan ketebalan nata de seaweed selama masa fermentasi nata.....	54
18. Pertambahan berat nata de seaweed selama masa fermentasi nata.. ..	55
19. Hasil uji kadar total nitrogen selama masa fermentasi nata de seaweed.....	58
20. Hasil uji kadar gula reduksi selama masa fermentasi nata de seaweed	60

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Prosedur Pembuatan Nata de Seaweed (Modifikasi dari Pradana, 2006).....	68
2. Diagram Alir Prosedur Penelitian	69
3. Parameter Uji	70
3.1. Ketebalan	70
3.2. Berat	70
3.3. DO	70
3.4. Analisa pH (Yuwono dan Susanto, 1998).....	70
3.5. Perhitungan Kepadatan <i>Acetobacter xylinum</i>	71
3.6. Analisa Gula Reduksi Metode Spektrofotometri (AOAC, 1990)	73
3.7. Penentuan Kadar N Total Metode Kjeldhal (Greenberg <i>et.al.</i> , 1985)	74
3.8. Analisa Rendemen	74
3.9. Analisa Tekstur (Yuwono dan Susanto, 1998)	75
3.10. Analisa Kadar Air (AOAC, 1990)	75
3.11. Analisa Serat Kasar (Muchtadi, 1989)	76
3.12. Pengukuran Derajat Kristalinitas	76
3.13. Pengujian Timbal (Pb)	77
3.14. Pengujian Merkuri (Hg)	77
4. Data dan Perhitungan Ketebalan.....	79
5. Data dan Perhitungan Rendemen.....	83
6. Data dan Perhitungan Kadar air	87
7. Data dan Perhitungan Serat kasar	91
8. Data dan Perhitungan Tekstur.....	95
9. Data dan Perhitungan pH	99
10. Data dan Perhitungan DO	102
11. Data dan Perhitungan Konsentrasi Bakteri Akhir (10^6 cfu/ml)	105
12. Perhitungn Perlakuan Terbaik.....	108
13. Grafik, Data dan Perhitungan Derajat Kristalinitas.	109

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Karaginan semi murni atau *Semi Refined Carrageenan* (SRC) merupakan produk hasil pengolahan rumput laut dari jenis *Eucheuma*. Proses pengolahannya meliputi alkalisasi, penetralan dan pengeringan (Anonymous, 2006). Jenis alkali yang digunakan pada umumnya adalah Kalium Hidroksida (KOH). Selain itu, SRC juga dapat dihasilkan dengan menggunakan alkali lain seperti NaOH, atau $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Anonymous, 2006a).

Penggunaan larutan alkali dalam proses pembuatan SRC menyebabkan limbah cair yang dihasilkan memiliki pH tinggi yaitu berkisar antara 11 hingga 12,5 atau bersifat basa. Limbah cair berasal dari proses perebusan (*alkalisasi*) rumput laut dan perendaman (penetralan). Limbah cair dalam kapasitas kecil barangkali belum mengganggu kestabilan lingkungan. Masalah akan timbul apabila limbah dihasilkan dalam kapasitas besar dan kontinyu, seperti limbah yang dihasilkan oleh industri SRC. Limbah tersebut berbahaya jika langsung dibuang ke perairan karena mempunyai pH yang tinggi. PH tinggi dapat mengganggu kehidupan biota yang ada di dalamnya terutama ikan. Alasan tersebut yang mendorong industri SRC mengupayakan pengolahan limbah dengan menggunakan teknologi modern.

Nilai investasi yang dialokasikan untuk instalasi pengolahan limbah dengan teknologi modern sangat mahal hingga mencapai milyaran rupiah, namun kontribusi pada finansial perusahaan relatif rendah. Hasil dari pengolahan limbah ini hanya dapat diambil dan digunakan sebagai pupuk pertanian dengan penggunaan yang terbatas. Melihat kondisi seperti ini diperlukan upaya meningkatkan nilai tambah dan kegunaan

limbah SRC. Salah satu upaya yang akan dilakukan adalah mengolah limbah perebusan menjadi nata.

Nata merupakan produk selulosa yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Nata berasal dari bahasa Latin “*natare*” yang berarti mengapung. Nata sebenarnya merupakan “*Bacterial cellulose*” yang disintesa dari gula oleh bakteri pembentuk nata yaitu *Acetobacter xylinum* dengan membentuk gel dibawah permukaan media yang mengandung gula (Okiyama *et.al.*, 1992).

Upaya pembuatan nata dipilih karena limbah SRC diduga mengandung sejumlah nutrien seperti sumber karbon (dalam bentuk gula reduksi), dan sumber nitrogen yang diperlukan oleh bakteri. Nilda (2006), melaporkan bahwa dalam limbah SRC mengandung kadar nitrogen total sebesar 2.182,89 mg/l $\text{NH}_4\text{-N}$, total gula sebesar 0,16 %, viskositas 1,0494 cps dan pH 12,5. Pengolahan limbah perebusan SRC menjadi nata lebih mudah dilakukan dan terjangkau secara ekonomi, sehingga dapat merangsang perkembangan industri pengolahan rumput laut khususnya industri SRC serta dapat menjaga kestabilan lingkungan.

Setiap nata memiliki kandungan gizi dan tingkat organoleptik yang berbeda. Faktor-faktor yang mempengaruhi pembuatan nata antara lain perbedaan jenis bahan baku yang digunakan, konsentrasi starter (v/v), pH fermentasi, lama fermentasi, konsentrasi suplementasi, tempat fermentasi dan sebagainya (Budiyanto, 2002).

Menurut Alaban (1962) dalam Nurani dan Laily (2002), pada umumnya konsentrasi *Acetobacter xylinum* yang dipergunakan sebagai starter dalam pembuatan nata adalah 10 - 20% (v/v). Daniel (2002), melaporkan bahwa penggunaan starter *Acetobacter xylinum* pada usia 6 hari dengan konsentrasi 7,5 % (v/v) merupakan perlakuan terbaik dalam

proses pembuatan nata de soya. Nilda (2006), melakukan penelitian tentang pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottonii*, menggunakan sukrosa 10%, starter 10%, pH 4, pada suhu kamar selama 14 hari dengan perlakuan tingkat pengenceran media fermentasi yang berbeda. Dari hasil penelitian dilaporkan bahwa perlakuan pengenceran media fermentasi dengan perbandingan 1:13 merupakan perlakuan terbaik pada pembuatan nata de seaweed dilihat dari kadar air 97,39%, ketebalan 1,83 cm, rendemen 45,91%, serat kasar 3,19%, tekstur 0,207mm/g.det, gula reduksi 3,82%, total gula 3,47%, pH 3,31, oksigen terlarut 1,8 g/l, kenampakan 6,11, rasa 6,11, warna 5,99 dan tekstur 6,06. Pradana (2006), menambahkan pada pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottonii*, menggunakan sukrosa 10%, starter 15%, pada suhu kamar selama 14 hari dengan perlakuan perbedaan konsentrasi asam asetat, diperoleh hasil bahwa perlakuan penambahan konsentrasi asam asetat 1,57% merupakan perlakuan terbaik dengan nilai karakteristik produk yang meliputi ketebalan 1,783 cm, rendemen 46,95%, serat kasar 7,149%, gula reduksi 0,121%, kadar air 88,987%, tekstur 0,203 mm/g.det., sedangkan tingkat kesukaan konsumen meliputi kenampakan sebesar 6,22, tekstur sebesar 5,29, warna sebesar 6,34, dan rasa sebesar 6,44. Menurut Krystynowicz *et.al.* (2002), terjadinya produksi selulosa pada pembuatan nata akan seiring dengan kenaikan jumlah sel yang ada di dalam media. Permasalahan yang muncul berdasarkan uraian diatas adalah mengenai pengaruh perbedaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* (v/v) yang digunakan pada pembuatan nata terhadap kualitas produk nata yang dihasilkan.

1.2. Identifikasi Masalah

Produksi nata dipengaruhi oleh perbedaan jenis bahan baku yang digunakan, konsentrasi starter (v/v), pH fermentasi, lama fermentasi, konsentrasi suplementasi, tempat fermentasi dan sebagainya (Budiyanto, 2002). Menurut Alaban (1962) dalam Nurani dan Laily (2002), konsentrasi optimum *Acetobacter xylinum* yang dipergunakan sebagai starter dalam pembuatan nata adalah 10 - 20% (v/v). Sedangkan Daniel (2002), melaporkan bahwa penggunaan starter *Acetobacter xylinum* pada usia 6 hari dengan konsentrasi 7,5 % (v/v) merupakan perlakuan terbaik dalam proses pembuatan nata de soya. Nilda (2006), pada pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottonii*, menggunakan sukrosa 10%, starter 10%, pH 4, pada suhu kamar selama 14 hari dengan perlakuan pengenceran media fermentasi 1:13 merupakan merupakan perlakuan terbaik dalam proses pembuatan nata seaweed.

Konsentrasi starter memegang peranan penting dalam menentukan hasil akhir nata. Menurut Krystynowicz *et.al.* (2002), terjadinya produksi selulosa pada pembuatan nata akan seiring dengan kenaikan jumlah sel yang ada di dalam media fermentasi. Pada saat memproduksi selulosa atau nata bakteri *Acetobacter xylinum* akan terjebak dalam matrik selulosa. Selama terjebak di dalam matrik selulosa diduga bakteri *Acetobacter xylinum* masih tetap aktif memproduksi selulosa hingga nutrien yang ada di sekitarnya khususnya sumber karbon habis, sehingga akan meningkatkan kandungan serat kasar dan akan menurunkan kadar air nata.

Menurut Brown *et.al.* (1976), pada pengamatan terhadap mekanisme biosintesa selulosa yang dilakukan bakteri *Acetobacter xylinum* secara in vivo, dikemukakan bahwa selulosa bakteri yang dihasilkan bakteri *Acetobacter xylinum* berbentuk untaian

pita. Setiap pita terdiri atas kurang lebih 46 mikrofibril dan setiap mikrofibril terdapat kurang lebih 50 titik sintesa yang berisi individu bakteri. Dengan demikian diduga semakin banyak jumlah bakteri yang digunakan akan menyebabkan semakin besar jumlah titik sintesa dan semakin cepat waktu yang diperlukan untuk mengkonversi substrat sumber karbon fermentasi menjadi selulosa.

Apabila jumlah *Acetobacter xylinum* yang digunakan terlalu besar akan berdampak pada peningkatan kebutuhan energi dan produksi nata dapat menurun. Selain itu akan terjadi peningkatan produksi asam glukonat yang lebih cepat dan besar sehingga pH media semakin rendah apabila substrat yang dipergunakan adalah substrat yang mengandung glukosa (Keshk and Sameshima, 2005).

Meskipun keterbatasan jumlah nutrisi dalam media turut mempengaruhi produksi nata de seaweed, menurut Utami (2006), penambahan substrat yang lebih banyak tidak akan meningkatkan laju reaksi karena akan mengalami penjejunan substrat. Apabila hal ini terjadi, kemungkinan hasil biosintesa akan tetap atau turun, sedangkan penambahan yang terlalu sedikit menyebabkan bibit nata menjadi tumbuh tidak normal dan nata tidak dapat dihasilkan secara maksimal. Dalam kondisi seperti itu, dimana jumlah substrat yang terbatas dan masih memberikan keleluasaan aktifitas bakteri, konsentrasi bakteri *Acetobacter xylinum* pada awal masa fermentasi akan menunjukkan peranannya yang sangat penting.

Berdasarkan hal tersebut di atas, timbul permasalahan apakah perbedaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v) yang digunakan pada pembuatan nata dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottoni* akan berpengaruh terhadap kualitas nata de seaweed ?

1.3. Hipotesa

Diduga perbedaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v) pada limbah perebusan SRC *Eucheuma cottoni* akan berpengaruh terhadap kualitas produk nata de seaweed.

1.4. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh penggunaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v) yang berbeda terhadap kualitas nata de seaweed dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottoni*.

1.5. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah :

- sebagai bahan informasi tentang metode pemanfaatan limbah perebusan SRC *Eucheuma cottoni* menjadi nata de seaweed.
- sebagai salah satu referensi dalam upaya menghasilkan selulosa bakteri dan untuk memperbaiki teknologi yang digunakan.

1.6. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Dasar Fakultas Perikanan, dan Laboratorium Sentral Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang pada bulan November 2006 sampai dengan April 2007.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Karaginan Semi Murni

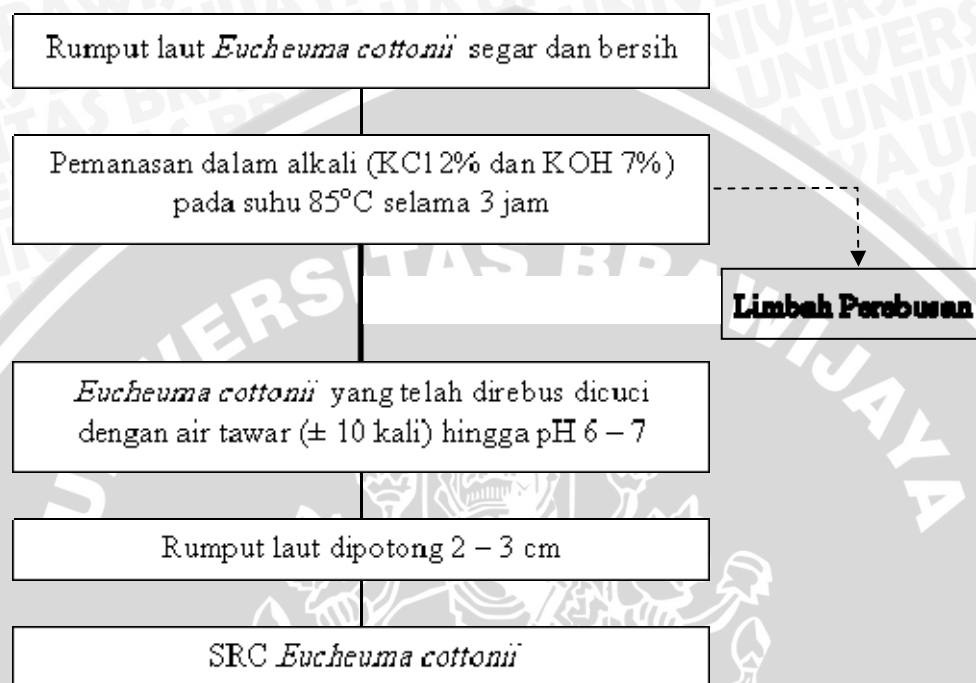
Karaginan semi murni merupakan produk rumput laut setengah jadi yang akan diolah menjadi karaginan. Tepung karaginan semi murni diperoleh melalui beberapa tahapan yaitu perlakuan alkalis, ekstraksi, filtrasi, pengerigan dan penepungan (Istini dkk, 1985). Produk karaginan semi murni dikenal dengan beberapa nama seperti *Processed Euchema Seaweed* (PES), *Philippines Natural Grade* (PNG), *Semi-Refined Carrageenan* (SRC), *Alternatively Refined Carrageenan* (ARC) dan *Alkali-Modified Flour* (AMF) (Imeson, 2006). Menurut Zatnika (1993), proses pengolahan rumput laut menjadi ATC ada tiga tipe, yaitu ATC suhu rendah (*low alkali*), yang diekstrak dengan suhu 40-45°C, ATC suhu tinggi (*high alkali*) yang diekstraksi dengan suhu 80-85°C dan *Seaweed Flour* (SF).

Proses SRC lebih banyak dilakukan dengan menggunakan bahan rumput laut jenis *Eucheuma cottonii*. Prosedur pengolahan SRC *Eucheuma cottonii* adalah berikut:

(1) Rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* segar dibersihkan. (2) Rumput laut dimasak selama 3 jam dalam larutan alkali (KOH 7% dan KCl 2%) pada suhu 85°C. (3) Rumput laut dicuci sebanyak 10 kali sampai bau KOH berkurang dan pH nya netral. (4) Rumput laut dipotong-potong 2-3 cm dan dikeringkan. (5) SRC diperoleh dalam bentuk *cottoni chips* (Anonymous, 2003).

SRC dapat digunakan sebagai stabilizer dan emulsifier pada industri makanan ternak. Disamping itu juga merupakan bahan baku untuk industri karaginan murni,

sehingga dapat diperoleh karaginan dengan kekuatan gel serta rendemen yang tinggi (Bambang, dkk., 1999). Adapun alur pembuatan SRC tercantum pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alur Pembuatan SRC (Anonymous, 2003)

Proses pembuatan SRC akan menghasilkan limbah dalam bentuk padat dan cair. Limbah cair terdiri atas limbah perebusan (alkalisasi), dan perendaman (penetralkan). Limbah perebusan bersifat alkalis. Hal ini disebabkan karena proses perebusan menggunakan basa kuat seperti KOH. KOH merupakan jenis alkali yang umum dipergunakan dalam ekstraksi SRC. Selain menggunakan KOH, alkali lain seperti NaOH, atau $\text{Ca}(\text{OH})_2$ juga dapat dipergunakan (Anonymous, 2006a). Menurut Stanley (1973) dalam Suryaningrum (1998) larutan alkali mempunyai 2 fungsi, yaitu untuk membantu ekstraksi polisakarida dari rumput laut dan berfungsi untuk mengkatalis hilangnya gugus-6-sulfat dari unit monomernya dengan membentuk 3,6-anhydrogalaktosa, sehingga kekuatan gelnya naik. Menurut Bixler and Johndro (2001), larutan KOH

memiliki kemampuan mengekstrak protein, DNA, lemak, garam laut, dan warna rumput laut sehingga menyebabkan tingginya BOD dan kepekatan limbah SRC. Sifat alkali, tingginya BOD dan kepekataannya menyebabkan limbah SRC berbahaya bagi lingkungan.

2.2. Nata

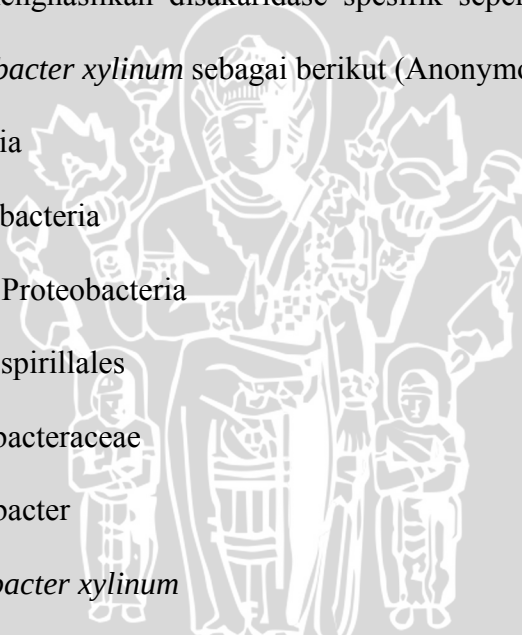
Nata berasal dari bahasa Spanyol, dalam bahasa latinnya disebut *natare* yang berarti terapung-apung (Anonymous, 2004). Nata merupakan suatu bahan makanan hasil fermentasi oleh bakteri yang kaya akan selulosa, bersifat kenyal, transparan, dan rasanya menyerupai kolang-kaling. Nata merupakan selulosa bakteri yang terbentuk sebagai aktifitas bakteri. Selulosa ini merupakan produk bakteri untuk membentuk *slime* (menyerupai kapsul) yang pada akhirnya bakteri tersebut terperangkap didalam masa fibliar selulosa tersebut (Budiyanto, 2002).

Prinsip pembuatan nata adalah memfermentasikan media yang mengandung makro dan mikro nutrisi dengan bantuan *Acetobacter xylinum*, dalam kondisi asam selama 14 hari. Dari jutaan jasad renik yang tumbuh akan dihasilkan jutaan lembar benang-benang selulosa yang akhirnya nampak padat berwarna putih transparan yang disebut sebagai nata (Pambayun, 2002).

Banyak faktor yang berpengaruh dalam proses produksi nata. Selain harus mengandung gula, media yang digunakan juga harus mengandung senyawa nitrogen, vitamin, mineral, dan kondisi lingkungan harus mendukung seperti derajat keasamaan (pH) berkisar antara 4 – 4,5 dengan suhu ruang 25° – 30° C (Colvin and Beer, 1960). Persyaratan lain, ruang fermentasi gelap dan oksigen bisa masuk ke dalam wadah media cair tersebut (Saragih, 2004).

2.3. Bakteri Pembentuk Nata

Bakteri yang paling dikenal dalam pembentuk nata adalah *Acetobacter xylinum*. Bakteri ini termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang, aerobik, dan bersifat katalase positif. Bakteri ini termasuk dalam kelompok bakteri asam asetat, yang melalui proses oksidasi metil alkohol dapat menghasilkan asam asetat. Asam asetat inilah yang berfungsi sebagai penekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya, terutama mikroorganisme yang bukan asidofilik. *Acetobacter xylinum* tidak dapat menghasilkan amilase, tetapi dapat menghasilkan disakaridase spesifik seperti sukrase (Budiyanto, 2002). Klasifikasi *Acetobacter xylinum* sebagai berikut (Anonymous, 2004).



Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Alpha Proteobacteria
Order	: Rhodospirillales
Family	: Acetobacteraceae
Genus	: Acetobacter
Species	: <i>Acetobacter xylinum</i>

Fase pertumbuhan dari *Acetobacter xylinum* menurut Pambayun (2002) adalah sebagai berikut:

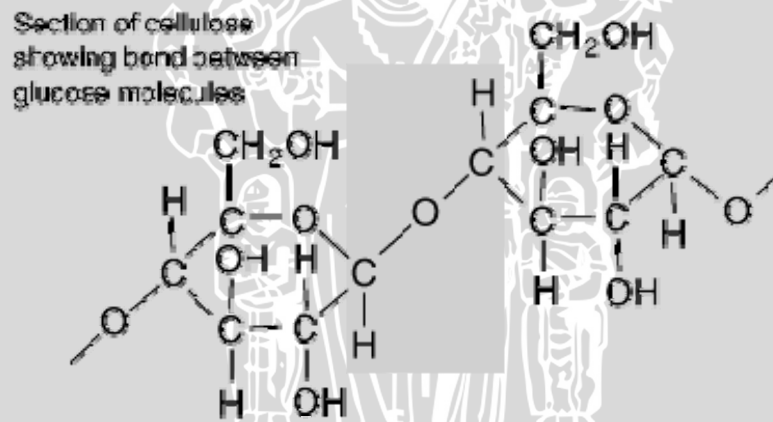
- Adaptasi. Bakteri akan terlebih dahulu menyesuaikan diri dengan substrat. Meskipun tidak mengalami perbanyakan sel, pada fase ini terjadi aktivitas metabolisme dan bahkan pembesaran sel. Fase ini berlangsung antara 0-24 jam atau ± 1 hari sejak inokulasi.

- Pertumbuhan awal. Sel mulai membelah dengan kecepatan rendah. Fase ini menandai awalnya fase pertumbuhan eksponensial. Fase ini dilalui dalam beberapa jam.
- Pertumbuhan eksponensial. Bakteri nata mengeluarkan enzim *selulosa sintase* sebanyak-banyaknya untuk memecah komponen gula membentuk suatu polisakarida. Fase ini dicapai antara 1-5 hari.
- Pertumbuhan lambat. Pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati.
- Pertumbuhan tetap. Jumlah sel yang tumbuh relatif sama dengan jumlah sel yang mati. Pada fase ini, sel akan lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim dibandingkan dengan ketahanannya pada fase yang lain. Matrik nata lebih banyak diproduksi pada fase ini.
- Menuju kematian. Bakteri mulai mengalami kematian karena nutrisi telah habis dan sel kehilangan banyak energi cadangannya.
- Kematian. Sel mengalami lisis dan melepaskan komponen yang ada didalamnya. Fase ini dicapai setelah hari kedelapan hingga ke lima belas.

2.4. Biosintesis Selulosa

Pada kondisi yang sesuai bakteri *Acetobacter xylinum* atau yang disebut juga dengan bakteri “nata “ dapat memecah komponen gula dalam substrat dan membentuk suatu polisakarida, yaitu “ekstracelluler selulosa”. Proses biosintesa selulosa melalui dua tahapan yaitu polimerisasi dan kristalisasi. Tahapan polimerisasi dikatalis enzim selulosa sintase. Selulosa yang terbentuk merupakan rantai β -1,4-glukan yang dirangkai dari

lebih dari 200.000 residu glukosa per detik. Tahapan selanjutnya adalah tahapan kristalisasi. Tahapan kristalisasi tergantung pada kemungkinan pengaturan enzim-enzim selulosa sintase dengan protein lain maka seperti itu rantai glukosa disusun dalam bentuk kristaline (Saxena, *et.al.*, 2003). Sedangkan selulosa yang dihasilkan bakteri *Acetobacter xylinum* memiliki ukuran fibril yang lebih kecil (~1%) dari tanaman, dengan menunjukkan viskositas pseudoplastik seperti gel xanthan tetapi viskositasnya tidak hilang pada temperatur tinggi dan memiliki daya hancur rendah sehingga menjadi selulosa yang dapat menjaga strukturnya. Pada bagian tepi selulosa dikelilingi air, selulosa fleksibel dan tidak ada permukaan yang memiliki ikatan hidrofobik (Anonymous, 2005). Adapun struktur bangun selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Selulosa (Anonymous, 2006b)

Menurut Budiyanto (2002), selulosa disintesa dari rantai pemula dan NDP-glukosa (Nukleosida di-phospat glukosa). Reaksi sintesa dikatalis oleh enzim selulosa sintase. Pemanjangan terjadi pada gugus terminal tidak reduktif. Hasilnya adalah polimer yang mempunyai ikatan 1,4 β . Sintesa selulosa melalui reaksi sebagai berikut :



Mekanisme biosintesa selulosa secara detail dikemukakan oleh Swiss, *et.al.* (1980), dimana jalur biosintesa selulosa dimulai dari pemindahan glukosa melalui membran bakteri dan mengalami fosforilasi menjadi glukosa 6-phosphat oleh glukosa kinase. Glukosa 6-phosphat mengalami isomerisasi menjadi Glukosa 1-phosphat oleh phosphoglukomutase. Glukosa 1-phosphat dikonversi kedalam bentuk uridine 5'-diphosphat glukose (UDPG) oleh UDPG pyrophosphorilase. Akhirnya UDPG dipolimerisasi kedalam bentuk selulosa oleh *selulose synthase*.

Biosintesa selulosa merupakan proses konsumsi energi dan nonreversibel. Sintesa selulosa secara spesifik diaktifkan oleh nukleotida yaitu asam cyclic diguanylic (c-di-GMP). Nukleotida ini disintesa dari GTP oleh diguanylate cyclase dan dihancurkan oleh enzim Phosphodiesterase A dan B (Wong *et.al.*,1990).

2.5. Fermentasi dan Faktor- Faktor yang Mempengaruhinya

2.5.1. Sumber Karbon

Komponen penyusun media untuk proses fermentasi harus lengkap sesuai dengan keperluan mikroba. Sumber karbon dalam biosintesa selulosa dapat berupa gula (monosakarida dan disakarida) dan alkohol (Keshk and Sameshima, 2005). Selain sebagai sumber energi dan bahan pembentuk nata, gula juga dapat berfungsi sebagai bahan induser yang berperan dalam pembentukan enzim ekstraseluler polimerase yang bekerja menyusun benang-benang nata, sehingga pembentukan nata dapat maksimal (Pambayun, 2002).

Sumber karbon utama yang dapat digunakan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* adalah glukosa (Hestrin, dan Schramm,1954). Meskipun demikian sumber karbon yang

lain seperti fruktosa, sukrosa juga dapat digunakan sebagai sumber karbon. Menurut Holmes (2004), sebelum digunakan dalam memproduksi selulosa, sumber karbon selain glukosa seperti fruktosa terlebih dahulu harus dikonversi ke dalam bentuk Glucose-6-phosphate. Keshk and Sameshima (2005), menambahkan bahwa 97% glukosa pada media akan dikonsumsi oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Sedangkan substrat lain seperti fruktosa hanya 51,9%.

Jenis gula yang paling umum digunakan dalam industri nata adalah gula pasir yang mengandung komponen utama sukrosa karena lebih ekonomis. Menurut Mormino (1999), pada dasarnya bakteri *Acetobacter xylinum* tidak dapat langsung menggunakan substrat sukrosa. Substrat ini harus diubah kedalam bentuk monomernya yaitu glukosa dan fruktosa. Wirahadikusuma (1977) mengemukakan bahwa untuk merubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa, diperlukan air dan kehadiran enzim sakarase dalam suasana asam.

2.5.2. Oksigen (O₂)

Hestin dan Schramm (1954) mengemukakan bahwa gel selulosa (nata) tidak akan terbentuk jika dalam media tidak tersedia oksigen dan glukosa. Rahman (1992), mengemukakan bahwa jumlah oksigen yang dibutuhkan pada setiap proses fermentasi berbeda tergantung pada sumber karbon yang digunakan dan komposisi kimia sel. Perpindahan oksigen dari udara kedalam sel mikroba selama proses fermentasi terjadi melalui 3 tahap yaitu tahap perpindahan oksigen dari gelembung udara ke dalam larutan, tahap perpindahan oksigen terlarut dari media fermentasi ke dalam sel mikroba dan tahap pengambilan oksigen terlarut oleh sel. Kecepatan perpindahan oksigen dari setiap

tahap dipengaruhi oleh kepekatan media oleh konsentrasi gula yang tinggi. Selain itu transfer oksigen kedalam media juga dipengaruhi oleh jenis penutup wadah fermentasi dan volume media fermentasi.

2.5.3. Sumber Nitrogen

Bahan organik lain selain unsur karbon yang harus ada dalam media fermentasi adalah unsur nitrogen yang berguna untuk menyusun protoplasma. Sumber nitrogen yang biasanya digunakan dari senyawa organik maupun anorganik. Jenis sumber nitrogen yang baik untuk pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dan pembentukan nata adalah ekstrak yeast dan kasein. Namun ammonium sulfat dan ammonium fosfat (ZA) merupakan bahan yang lebih cocok digunakan dari sudut pandang ekonomi dan kualitas nata yang dihasilkan. Kelebihan ZA adalah dapat menghambat atau mempersulit pertumbuhan *Acetobacter acetii* yang merupakan pesaing dari *Acetobacter xylinum* (Pambayun,2002).

Rosario (1982) dalam Wijaningsih (1999), mengemukakan bahwa nitrogen dalam media fermentasi nata diperlukan untuk merangsang pertumbuhan serta aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum*. Sumber nitrogen berasal dari bahan organik atau bahan anorganik seperti ekstrak khamir, pepton. Amonium sulfat, kalium nitrat dan amonium fosfat.

2.5.4. Nutrien Lainnya

Pada umumnya bakteri membutuhkan zat-zat anorganik seperti garam-garam yang mengandung Na, K, Ca, Mg, Fe, Cl, S, P, sedangkan pada spesies tertentu juga membutuhkan mineral seperti Mn dan Mo (Dwijoseputro, 1984). Widia (1984) melaporkan bahwa peningkatan konsentrasi nitrogen dalam substrat dapat meningkatkan

jumlah polisakarida yang terbentuk, sedangkan ion-ion bivalen seperti Mg^{++} , Ca^{++} dan lainnya diperlukan untuk mengontrol kerja enzim ekstraseluler dan membentuk ikatan dengan polisakarida tersebut.

Pambayun (2002), mengemukakan bahwa bakteri *Acetobacter xylinum* memerlukan kofaktor dalam membentuk enzim ekstraseluler. Kofaktor ini berupa mineral kalium. Sehingga kehadiran mineral kalium dalam media fermentasi nata sangat penting. Selain itu ditambahkan pula bahwa bakterio *Acetobacter xylinum* juga memerlukan sejumlah vitamin. Vitamin berperan dalam pembentukan koenzim. Penambahan ekstrak yeast dalam memproduksi nata, selain berperan sebagai sumber nitrogen organik juga dapat memberikan tambahan vitamin pada media fermentasi.

2.5.5. pH media fermentasi

Konsentrasi ion hidrogen (pH) merupakan faktor penting dan mempengaruhi pertumbuhan jasad renik, termasuk sel-sel jaringan hewan dan tumbuhan. Tiap mikroba memiliki pH optimum yang berbeda. pH yang dibutuhkan dalam pembuatan nata adalah 3 – 5 atau dalam suasana asam. Pada kedua sisi pH optimum, aktivitas enzim sering kali menurun dengan tajam. Suatu perubahan kecil pada pH dapat menimbulkan perbedaan besar pada kecepatan beberapa reaksi enzimatik yang penting bagi organisme (Budiyanto, 2002).

pH atau derajat keasaman media yang berasal dari bahan-bahan (buah-buahan) yang mengandung asam seperti nanas dan tomat, umumnya telah sesuai untuk pembuatan nata. Namun pada beberapa bahan lain yang memiliki keasaman kurang perlu dilakukan penyesuaian tingkat keasamannya. Menurut Saragih (2004), pH dalam media pembuatan

nata harus sesuai sedangkan asam yang sering digunakan dalam produksi nata secara komersial adalah asam asetat glasial atau cuka. Selain aman dan murah, asam ini juga dapat dipergunakan sebagai sumber karbon bagi bakteri nata dalam kondisi tertentu.

2.5.6. Suhu

Suhu inkubasi yang terbaik untuk pertumbuhan *Acetobacter xylinum* adalah 25–30°C (Colvin and Beer, 1960). Pada suhu dibawah 15°C dan diatas 35°C tidak terjadi pembentukan nata. Proses fermentasi dilakukan dengan wadah tertutup rapat dengan kertas koran dan diperam pada suhu sekitar 30°C (Astawan dan Astawan, 1990).

2.5.7. Inokulum

Inokulum atau starter yang digunakan dalam pembuatan nata adalah biakan *Acetobacter xylinum*. Starter adalah populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi. Media starter biasanya identik dengan media fermentasi. Media ini diinokulasi dengan biakan murni dari agar miring yang masih segar (umur 6 hari) dalam media air kelapa atau media yang identik dengan media fermentasi (Anonymous, 2001).

Usia starter sangat menentukan kemampuan bakteri untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya. Hal ini dihubungkan adanya tahapan-tahapan pertumbuhan bakteri. Bakteri yang dalam kondisi lag fase kurang tahan terhadap perubahan lingkungan baru, jika dibandingkan dengan fase logaritmik dan stationer (Brock, *et.al.*, 1994).

Selain usia, konsentrasi starter juga memiliki peranan penting. Pada pengkondisian lingkungan dan jenis bakteri yang sama, konsentrasi starter yang tinggi terhadap media fermentasi diasumsikan dengan semakin besar jumlah bakteri awal pada media. Menurut

Alaban (1962) dalam Nurani dan laily (2002), konsentrasi *Acetobacter xylinum* yang optimal dipergunakan sebagai starter dalam pembuatan nata adalah 10 - 20% (v/v). Sebaliknya penelitian yang telah dilakukan Daniel (2002), menunjukkan bahwa penggunaan starter *Acetobacter xylinum* pada usia 6 hari dengan konsentrasi 7,5 % (v/v) merupakan perlakuan terbaik dalam proses pembuatan nata dengan bahan dasar limbah perebusan tahu. Nilda (2006), pada pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottonii*, menggunakan sukrosa 10%, starter 10%, pH 4, pada suhu kamar selama 14 hari dengan perlakuan pengenceran media fermentasi 1:13 merupakan merupakan perlakuan terbaik dalam proses pembuatan nata seaweed.

Menurut Brown *et.al.* (1976), pada pengamatan terhadap mekanisme biosintesa selulosa yang dilakukan bakteri *Acetobacter xylinum* secara in vivo, dikemukakan bahwa selulosa bakteri yang dihasilkan bakteri *Acetobacter xylinum* berbentuk untaian pita. Setiap pita terdiri atas kurang lebih 46 mikrofibril dan setiap mikrofibril terdapat kurang lebih 50 titik sintesa yang berisi individu bakteri. Krystynowicz *et.al.* (2002), menambahkan bahwa terjadinya produksi selulosa pada pembuatan nata akan seiring dengan kenaikan jumlah sel yang ada di dalam media. Dengan demikian semakin banyak jumlah bakteri yang digunakan akan menyebabkan semakin besar jumlah titik sintesa dan semakin cepat waktu yang diperlukan untuk mengkonversi substrat sumber karbon fermentasi menjadi selulosa.

Bakteri nata (*Acetobacter xylinum*) sangat sensitif terhadap pencemaran mikroba. Kontaminasi yang kerap mengganggu pertumbuhan bakteri nata adalah kapang (terutama *Aspergillus* dan *Penicillium*), kapang berwarna merah, dan bakteri batang (famili *Bacillus*) (Saragih, 2004).

3. MATERI DAN METODE

3.1 Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah limbah perebusan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottonii*. Limbah ini diperoleh dari limbah perebusan atau alkalisasi rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* pada proses pembuatan SRC. Selain itu juga digunakan gula pasir (sukrosa), pupuk ZA dan NPK, yeast ekstrak, kertas koran, air bersih, dan asam asetat. Bakteri yang digunakan dalam pembuatan nata adalah bakteri *Acetobacter xylinum* dalam bentuk starter yang berusia 6 hari dan diperoleh dari laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang.

Bahan-bahan yang digunakan untuk analisa meliputi aquades, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2PO_4 , Glukosa, pepton, ekstrak yeast, Na_2PO_4 , asam sitrat monohidrat, agar bacteriological, NaCl (p.a), ethanol 95%, H_2SO_4 (p.a.), NaOH (p.a.), HCl (p.a), tablet kjeldahl, H_3BO_3 (p.a), Methyl Orange (p.a), larutan buffer pH 4,0 dan 7,0, Reagent Nelson (p.a.). Reagen Arsenomolybdat (p.a).

3.1.2 Peralatan penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kompor, panci, gelas ukur, kain kasa, beaker glass, spatula, pengaduk kayu, toples plastik dengan diameter 17,5 cm dan tinggi 9 cm (sebagai tempat fermentasi), timbangan analitik, pipet tetes, dan bola hisap. Alat yang digunakan untuk analisa adalah oven, erlenmeyer, spectronic (Type

Bausch and Lomb), kuvet, tabung reaksi, cawan petri, bunsen, water sprayer, pH meter, DO meter, pipet volume, pipet tetes, desikator, penangas air, “bunchen funnel”, mortar, pompa vakum, botol timbang, spatula, dan X-ray difraktometer tipe JEOL.

3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Percobaan eksperimen adalah untuk menyelidiki ada tidaknya hubungan sebab akibat serta berapa besar hubungan sebab akibat tersebut dengan cara memberikan beberapa perlakuan tertentu pada beberapa kelompok eksperimen (Natzir, 1988). Data diperoleh melalui pengamatan terhadap ketebalan, rendemen, kadar air, tekstur, berat, serat kasar, konsentrasi bakteri akhir, DO, dan pH. Penentuan perlakuan terbaik pada hasil penelitian dilakukan dengan menggunakan indeks efektifitas de garmo. Metode de garmo merupakan metode yang telah umum di adopsi dalam penentuan perlakuan terbaik pada penelitian pangan dan teknik (Susrini, 2005).

Setelah perlakuan terbaik diketahui, maka dilakukan penelitian penunjang dengan menggunakan metode deskriptif. Penelitian penunjang adalah untuk mengetahui perkembangan dan adaptasi bakteri pada media SRC. Data yang diamati meliputi densitas bakteri, DO, pH, gula reduksi, dan total nitrogen, selama periode fermentasi serta derajat kristalinitas, kadar pencemaran Pb dan Hg pada produk akhir.

3.3 Rancangan percobaan

Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Rancangan ini digunakan karena persoalan yang dibahas mempunyai unit-unit eksperimen yang bersifat homogen atau media percobaan yang homogen. Rancangan percobaan ini terdiri

dari satu faktor, dimana faktor ini terdiri dari tujuh perlakuan yang masing-masing perlakuan akan diulang sebanyak tiga kali sehingga didapatkan 21 satuan percobaan.

3.4 Variabel

Variabel merupakan segala sesuatu yang akan menjadi obyek penelitian. Variabel dibedakan menjadi variabel bebas dan variabel terikat. Variabel bebas adalah variabel yang dipilih sebagai variabel yang sengaja dipelajari pengaruhnya terhadap variabel terikat, sedangkan variabel terikat adalah variabel yang menjadi pusat persoalan (Suryasubrata,1989).

Variabel bebas yang digunakan dalam penelitian ini adalah konsentrasi starter (v/v) yang meliputi penambahan konsentrasi *Acetobacter xylinum* 7,5% (v/v), 10% (v/v), 12,5% (v/v), 15 % (v/v), 17,5% (v/v), 20 % (v/v), dan 22,5% (v/v), sedangkan variabel terikat meliputi ketebalan, rendemen, kadar air, tekstur, berat, serat kasar, konsentrasi bakteri akhir, DO, dan pH.

3.5 Prosedur Penelitian

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari beberapa penelitian sebelumnya tentang pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC *Eucheuma cottonii*. Pada penelitian tentang pengaruh pengenceran limbah perebusan SRC *Eucheuma cottonii* dalam pembuatan media nata de seaweed, diketahui bahwa pengenceran limbah SRC dengan air dengan perbandingan 1:13 merupakan nilai pengenceran terbaik (Nilda, 2006). Sedangkan pada penelitian tentang pengaruh penggunaan asam asetat dengan konsentrasi berbeda pada pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC

Eucheuma cottonii, diketahui bahwa penggunaan asam asetat dengan konsentrasi 1,57% merupakan perlakuan terbaik untuk menghasilkan nata de seaweed (Pradana,2006).

Prosedur penelitian dibagi menjadi 2 tahap yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* yang terbaik yang akan digunakan sebagai media fermentasi pada pembuatan nata. Hasil uji ketebalan, berat, dan sisa limbah nata menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* 15 % mempunyai nilai yang terbaik. Hal ini diduga berhubungan dengan ketersediaan nutrisi dalam media nata dari limbah SRC. Pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC mengacu pada penelitian nata yang dilakukan oleh Pradana (2006). Adapun prosedur penelitian tersebut tercantum pada Lampiran 1. Hasil uji Ketebalan, berat, rendemen, dan sisa limbah nata pada penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji pada penelitian pendahuluan

Konsentrasi Starter	Media SRC (ml)	Tebal nata (cm)	Berat nata (g)	Limbah Sisa (ml)	Rendemen (%)
5%	750	1,03	232,02	395	29,46%
10%	750	1,83	295,17	322	34,07%
15%	750	2,05	308,09	338	35,14%
20%	750	2,05	306,71	359	34,08%
25%	750	1,93	305,04	356	34,54%

Hasil penelitian pendahuluan yang tertera diatas menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi starter memberikan pengaruh terhadap hasil nata. Hasil yang diperoleh pada penggunaan konsentrasi 10% hingga 25% memiliki perbedaan yang tipis. Berdasarkan hal ini maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap parameter kualitas nata

khususnya kadar serat kasar. Menurut Widia (1984), serat kasar merupakan komponen terpenting dalam nata.

Penelitian lanjutan yang dilakukan meliputi dua bagian penting yaitu penelitian utama tentang pengaruh konsentrasi *Acetobacter xylinum* (v/v) terhadap kualitas nata de seaweed dan dilanjutkan dengan penelitian deskriptif terhadap pertumbuhan dan adaptasi bakteri *Acetobacter xylinum* pada limbah perebusan SRC berdasarkan perlakuan terbaik. Diagram alir prosedur penelitian disajikan pada Lampiran 2.

Pada penelitian utama, perlakuan yang diberikan adalah penggunaan konsentrasi *Acetobacter xylinum* 7,5%, 10%, 12,5%, 15 %, 17,5%, 20 %, dan 22,5%. Konsentrasi 25% pada penelitian pendahuluan tidak diikuti sertakan lagi karena pada konsentrasi tersebut telah terjadi penurunan kualitas produksi nata. Jarak perlakuan pada penelitian utama diperkecil dengan dasar yang diberikan Daniel (2002), bahwa selang konsentrasi penggunaan *Acetobacter xylinum* sebanyak 2,5% menunjukkan perbedaan terhadap hasil kualitas nata.

3.6 Pembuatan Nata de Seaweed

Pembuatan nata de seaweed dilakukan melalui dua tahapan:

(1) Persiapan media

Media yang digunakan merupakan limbah perebusan proses pembuatan SRC. Sebelum digunakan sebagai media pembuatan nata, limbah perebusan SRC diencerkan dengan air. Perbandingan pengenceran yang digunakan adalah 1:13 (Nilda, 2006). Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kain saring agar larutan bersih dari kotoran

(2) Pembuatan nata de seaweed

- Larutan diambil 750 ml, kemudian ditambahkan sukrosa 10 % (v/v), ZA 0,133%, NPK 0,133%, ekstrak yeast 0,006%. dan asam asetat dengan konsentrasi 1,57%.
- Media diambil (750 – konsentrasi starter (v/v)) ml dan dipanaskan selama 5 menit pada suhu 100°C.
- Setelah itu larutan disiapkan dalam wadah fermentasi steril (toples plastik) dengan diameter $\pm 17,5$ cm, dan ditutup dengan kertas koran steril.
- Media dibiarkan dingin selama ± 3 jam.
- Starter bakteri *Acetobacter xylinum* dimasukkan dengan konsentrasi berbeda yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, dan 22,5% dan diinkubasi selama 12 hari pada suhu kamar atau sekitar 25 - 30 °C
- Nata dipanen.
- Adapun prosedur pembuatan nata de seaweed tertera pada lampiran 2.

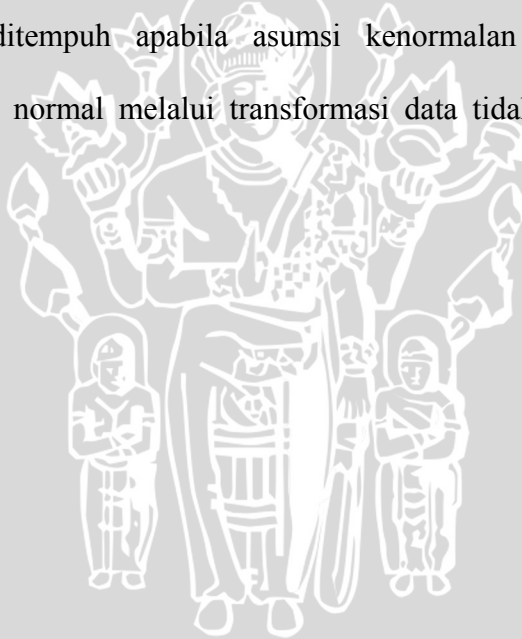
3.7 Parameter Uji

Prosedur pengujian parameter penelitian disajikan pada lampiran 3. Pengujian yang dilakukan dalam penelitian ini meliputi:

- Pengujian pengaruh konsentrasi starter (v/v) terhadap parameter kadar air, ketebalan, berat, rendemen, tekstur, serat kasar, jumlah bakteri akhir, DO, dan pH.
- Pengamatan tambahan pada perlakuan terbaik meliputi pengamatan densitas bakteri, pH, DO, pertambahan ketebalan dan berat, gula reduksi, dan total N, serta derajat kristalinitas pada akhir fermentasi, kadar logam berat seperti Pb dan Hg.

3.8 Analisis Data

Analisa data pada penelitian ini menggunakan program MINITAB versi 13. Apabila data hasil penelitian menyebar normal, maka analisa dilanjutkan ke ANOVA, yang merupakan suatu cara penguraian ragam total menjadi komponen-komponen ragam. Sedangkan data yang tidak normal terlebih dahulu ditransformasikan dengan salah satu metode transformasi berikut yaitu transformasi logaritmik, transformasi akar kuadrat, dan transformasi arcsin. Apabila setelah ditransformasikan data tetap tidak normal maka data dianalisa dengan menggunakan uji statistik nonparametrik yaitu uji Kruskall Wallis. Uji Kruskall Wallis ditempuh apabila asumsi kenormalan dan berbagai upaya mendapatkan data yang normal melalui transformasi data tidak terpenuhi (Gaspersz, 1984).



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Data Hasil Penelitian

Dari hasil penelitian tentang pengaruh perbedaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* (v/v) terhadap kualitas nata de seaweed dari limbah perebusan *Semi Refined Carrageenan* (SRC) *Eucheuma cottoni* diperoleh hasil sebagaimana tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas nata de seaweed

Parameter	Konsentrasi Starter <i>Acetobacter xylinum</i> (v/v) (%)						
	7,5	10,5	12,5	15	17,5	20	22,5
Ketebalan (mm)	10,65	16,15	20,13	25,61	26,10	26,30	26,12
Rendemen (%)	37,10	46,62	51,20	57,88	59,73	60,82	59,73
Kadar air (%)	94,87	93,08	91,97	91,79	92,77	94,01	94,38
Serat kasar (%)	3,61	4,48	4,80	4,88	4,66	4,18	3,97
Tekstur (mm/g det)	0,024	0,021	0,019	0,017	0,017	0,017	0,018

4.2 Parameter Kualitas Nata de Seaweed

4.2.1 Ketebalan

Rata-rata ketebalan nata akibat pengaruh perbedaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* (v/v) yang dipergunakan dalam pembuatan nata de seaweed berkisar antara 10,65 mm sampai 26,30 mm. Data pengukuran ketebalan pada penelitian adalah tidak normal sehingga data dianalisa dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Hasil uji Kruskal Wallis pada Lampiran 4 menunjukkan bahwa ada beda nyata ($p=0,010$) pada ketebalan nata akibat perbedaan konsentrasi *Acetobacter xylinum*. Rata-rata ketebalan nata dapat dilihat pada Tabel 3.

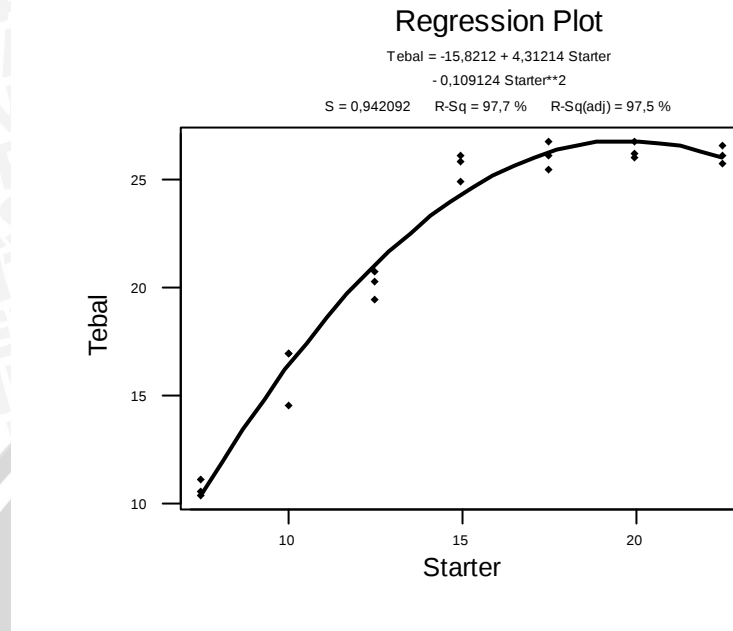
Tabel 3. Rata-rata ketebalan nata de seaweed

Starter (%)	Rata-rata (mm)	Notasi*
7,5	10,65	a
10	16,15	ab
12,5	20,13	ab
15	25,61	ab
17,5	26,10	ab
20	26,30	b
22,5	26,12	b

*) Keterangan: notasi sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Tabel diatas menunjukkan bahwa ketebalan nata cenderung meningkat seiring dengan semakin banyaknya konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* yang digunakan sampai pada konsentrasi 20% dan pada konsentrasi yang lebih tinggi ketebalan nata akan menurun. Ketebalan nata terendah terdapat pada perlakuan dengan menggunakan starter sebanyak 7,5% dan tertinggi pada penggunaan starter sebanyak 20%.

Menurut Brown, *et.al* (1976), tingginya ketebalan nata disebabkan *Acetobacter xylinum* mengasimilasi molekul glukosa dalam bentuk untaian pita. Pita memanjang kurang lebih 2 μm per menit. Pita terdiri atas 46 mikrofibril yang memiliki penampang melintang rata-rata 1.6 X 5.8 nm. Perpanjangan mikrofibril rata-rata tersusun atas 470 μmol glukosa/sel per jam di asimilasi kedalam bentuk selulosa. Pengamatan pada mikroskop elektron menunjukkan bahwa ada kurang lebih 50 titik sintesa yang berisi individu bakteri sepanjang rod bakteri dan berhubungan dengan bagian yang lebih luar. Hasil analisa regresi menunjukkan adanya hubungan antara penggunaan konsentrasi starter yang berbeda terhadap ketebalan nata, yang dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan ketebalan nata

Grafik diatas menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi starter dengan ketebalan nata berbentuk kuadrat dengan persamaan regresi:

$$y = -15,8212 + 4,31214 x - 0,109124 x^2$$

Nilai R-Sq(adj) untuk hubungan antara ketebalan dengan konsentrasi starter sebesar 97,5%, artinya ketebalan nata dipengaruhi sebesar 97,5 % oleh konsentrasi starter. Nilai optimal penggunaan starter dapat diketahui dengan perhitungan pada turunan fungsi kuadrat dari regresi diatas. Perhitungan tersebut menunjukkan adanya titik optimum pada 19,76 % artinya penggunaan starter sebanyak 19,76 % (v/v) merupakan konsentrasi optimal untuk mendapatkan nata dengan ketebalan maksimal.

4.2.2 Rendemen

Hasil pengamatan menunjukkan nilai rata-rata rendemen nata berkisar antara 37,10% sampai 60,82%. Data penghitungan rendemen pada penelitian adalah tidak normal sehingga data dianalisa dengan menggunakan uji Kruskal-Wallis. Hasil uji

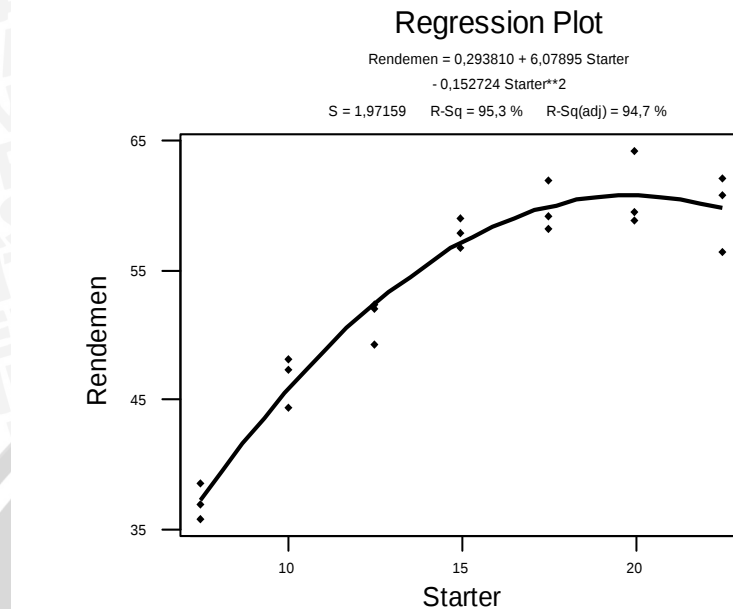
Kruskal Wallis pada Lampiran 5 menunjukkan bahwa ada beda nyata ($p=0,009$) pada rendemen nata akibat perbedaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum*. Rata-rata rendemen nata de seaweed pada berbagai konsentrasi starter disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata rendemen nata de seaweed

Starter (%)	Rata-rata (%)	Notasi*
7,5	37,10	a
10	46,62	ab
12,5	51,20	ab
15	57,88	ab
17,5	59,73	b
20	60,82	b
22,5	59,73	b

*) Keterangan: notasi sama menunjukan tidak berbeda nyata

Berdasarkan tabel diatas diketahui bahwa nilai rata-rata rendemen nata tertinggi diperoleh pada konsentrasi starter 20 %. Hal ini sebanding terhadap analisa ketebalan nata. Dimana semakin meningkatnya ketebalan nata diikuti pula dengan penambahan beratnya. Berat nata selanjutnya berpengaruh pada rendemen hasil fermentasi. Hasil analisa regresi menunjukkan adanya hubungan antara penggunaan konsentrasi starter yang berbeda terhadap rendemen nata, yang dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan rendemen nata

Berdasarkan analisa regresi hubungan antara konsentrasi starter dengan rendemen nata de seaweed berbentuk kuadratik dengan persamaan

$$Y = 0,293810 + 6,07895 x - 0,152724 x^2$$

Nilai R-Sq(adj) dari gambar di atas sebesar 94,7 %, artinya perlakuan konsentrasi starter mempengaruhi nilai rendemen nata de seaweed sebesar 94,7 %. Nilai optimal penggunaan starter dapat diketahui dengan perhitungan pada turunan fungsi kuadrat dari regresi diatas. Perhitungan tersebut menunjukkan adanya titik optimum pada 19,90 % artinya penggunaan starter sebanyak 19,90 % (v/v) merupakan konsentrasi optimal untuk mendapatkan nata dengan rendemen maksimal.

4.2.3 Kadar air

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa rata-rata kadar air nata de seaweed akibat perlakuan konsentrasi starter yang berbeda berkisar antara 91,79 % sampai 94,87%. Hasil analisa ragam pada Lampiran 6 menunjukkan bahwa perlakuan

konsentrasi starter yang berbeda (%) memberikan pengaruh yang nyata ($p=0.013$) terhadap kadar air nata de seaweed. Rata-rata nilai kadar air nata de seaweed dapat dilihat pada Tabel 5.

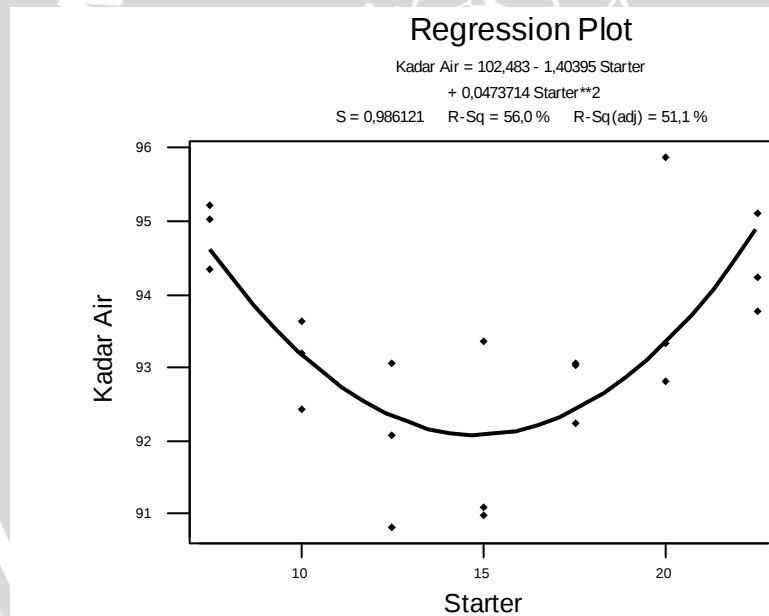
Tabel 5. Rata-rata kadar air nata de seaweed

Starter (%)	Rata-rata (%)	Notasi*
7,5	94,87 $\pm$ 0,46	b
10	93,08 $\pm$ 0,61	ab
12,5	91,97 $\pm$ 1,13	a
15	91,79 $\pm$ 1,36	a
17,5	92,77 $\pm$ 0,46	ab
20	94,01 $\pm$ 1,64	ab
22,5	94,38 $\pm$ 0,69	b

*) Keterangan: Notasi sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Kadar air nata de seaweed tertinggi akibat perlakuan konsentrasi starter adalah pada perlakuan 7,5 % yaitu sebesar 94,87% sedangkan kadar air terendah yaitu 91,79% didapat pada perlakuan dengan menggunakan konsentrasi starter 15 %. Proses pembentukan nata oleh bakteri *Acetobacter xylinum* diikuti oleh terjadinya pengikatan air dalam ikatan antar seratnya. Kekuatan ikatan serat dalam nata mempengaruhi jumlah air yang terikat di dalam nata. Semakin kuat ikatan antar serat dalam nata menyebabkan kandungan airnya menurun, semakin longgar ikatan seratnya maka kandungan airnya akan meningkat. Kadar serat kasar yang semakin tinggi menyebabkan kandungan air yang terdapat dalam nata menurun. Hal ini disebabkan oleh semakin rapatnya rantai selulosa dalam nata yang menyebabkan air terperangkap lebih sedikit (Rahadiyanto, 2001). Sedangkan Widia (1984) menyatakan bahwa poliskarida yang dibentuk oleh bakteri *Acetobacter xylinum* sebagian besar berupa serat kasar, sedangkan prekursor dari

serat kasar adalah GDP-Glukosa. Berdasarkan hal tersebut diduga dengan semakin tingginya konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* yang digunakan maka akan meningkatkan kemampuan bakteri dalam menghasilkan untaian pita selulosa. Namun konsentrasi yang melebihi batas optimum menyebabkan terjadinya penurunan kerapatan selulosa bakteri. Penurunan ini karena ketersediaan glukosa sebagai bahan dasar biosintesa selulosa terbatas. Hasil analisa regresi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara perlakuan konsentrasi starter dengan kadar air nata de seaweed seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan kadar air nata

Berdasarkan analisa regresi, hubungan antara konsentrasi starter dengan kadar air berbentuk linier dengan persamaan regresi:

$$y = 102,483 - 1,40395x + 0,0473714x^2$$

Nilai R-Sq(adj) dari gambar di atas sebesar 51,1%, artinya perlakuan konsentrasi starter mempengaruhi nilai kadar air nata de seaweed sebesar 51,1 %. Nilai optimal

penggunaan starter dapat diketahui dengan perhitungan pada turunan fungsi kuadrat dari regresi diatas. Perhitungan tersebut menunjukkan adanya titik optimum pada 14,82% artinya penggunaan starter sebanyak 14,82% (v/v) merupakan konsentrasi optimal untuk mendapatkan nata dengan Kadar air minimal.

4.2.4 Serat Kasar

Rata-rata serat kasar nata de seaweed akibat penggunaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* yang berbeda (v/v) berkisar antara 3,61 % sampai 4,88 %. Hasil analisa ragam menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi starter yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata ($p=0.002$) terhadap kadar serat nata de seaweed. Rata-rata nilai kadar serat kasar nata de seaweed dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Rata-rata kadar serat kasar nata de seaweed

Starter (%)	Rata-rata (%)	Notasi*
7,5	3,61±0,12	a
10	4,48±0,20	b
12,5	4,80±0,37	b
15	4,88±0,45	b
17,5	4,66±0,24	b
20	4,18±0,44	ab
22,5	3,97±0,30	ab

*) Keterangan: Notasi sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Kadar serat kasar nata de seaweed tertinggi akibat perlakuan konsentrasi starter adalah pada perlakuan 15 % yaitu sebesar 4,88% sedangkan kadar serat kasar terendah yaitu 3,61% didapat pada perlakuan dengan menggunakan konsentrasi starter 7,5%. Menurut Judiamidjojo (1991) dalam fermentasi salah satu faktor yang harus

diperhatikan adalah jenis sumber karbon tersebut mudah atau tidak digunakan oleh mikroba. Sedangkan menurut Hestrin dan Schramm (1954) mengemukakan bahwa selulosa tidak terbentuk jika didalam media tidak tersedia glukosa atau O_2 . Sehingga dengan semakin mudahnya sumber karbon tersebut digunakan oleh *Acetobacter xylinum* dan ketersediaan O_2 yang cukup maka selulosa akan lebih cepat dan mudah terbentuk yang mengakibatkan kandungan serat kasar dari nata akan semakin tinggi. Hasil analisa regresi pada Lampiran 7 menunjukkan bahwa ada hubungan antara perlakuan konsentrasi starter yang berbeda terhadap kadar serat kasar nata de seaweed seperti pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan serat kasar nata

Berdasarkan analisa regresi diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi starter dengan kadar serat kasar nata de seaweed berbentuk kuadratik negatif dengan persamaan:

$$y = 0,498150 + 0,574248 x - 0,0189767 x^2$$

Nilai R-Sq(adj) dari gambar di atas sebesar 62,3%, artinya perlakuan konsentrasi starter mempengaruhi nilai serat kasar nata de seaweed sebesar 62,3%. Nilai optimal penggunaan starter dapat diketahui dengan perhitungan pada turunan fungsi kuadrat dari regresi diatas. Perhitungan tersebut menunjukkan adanya titik optimum pada 15,13% artinya penggunaan starter sebanyak 15,13% (v/v) merupakan konsentrasi optimal untuk mendapatkan nata dengan Kadar serat kasar maksimal.

4.2.5 Tekstur

Rata-rata tekstur nata de seaweed pada penggunaan konsentrasi starter yang beda (v/v) berkisar antara 0,017 mm/g.det – 0,024 mm/g.det. Berdasarkan analisa ragam pada Lampiran 8, diketahui bahwa perlakuan penggunaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* yang beda memberikan pengaruh yang sangat nyata ($P=0,000$) terhadap tekstur nata de seaweed yang dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Rata-rata tekstur nata de seaweed

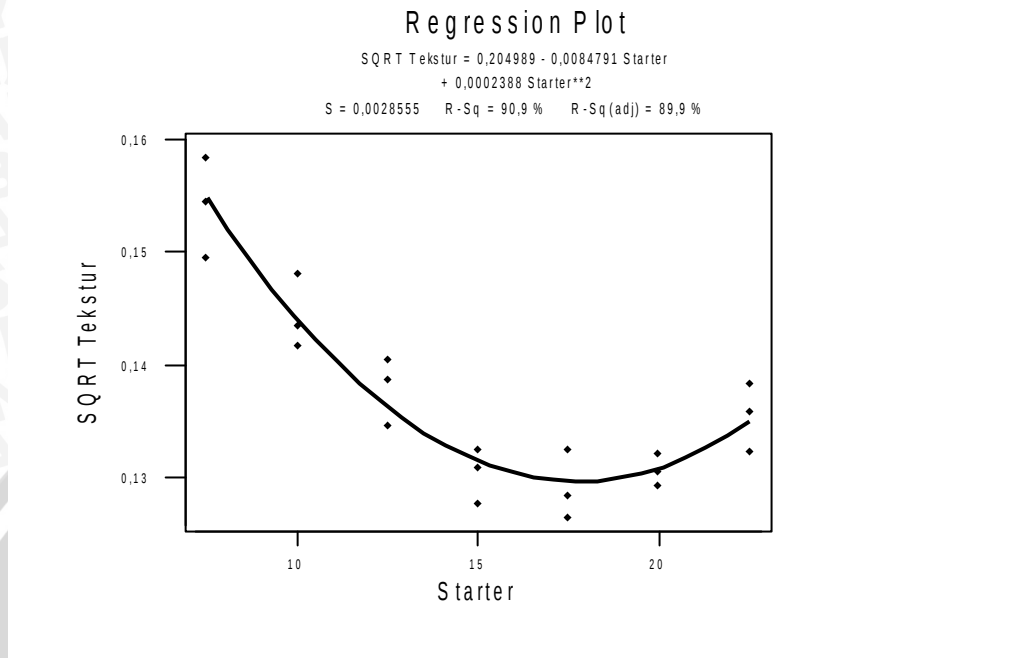
Starter (%)	Rata-rata (mm/g.det)	Notasi*
7,5	0,024±0,004	d
10	0,021±0,003	bc
12,5	0,019±0,003	b
15	0,017±0,002	a
17,5	0,017±0,003	a
20	0,017±0,001	ab
22,5	0,018±0,003	ab

*) Keterangan: Notasi sama menunjukkan tidak berbeda nyata

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa nata yang dihasilkan dari fermentasi dengan menggunakan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* sebanyak 17,5 % mempunyai

tekstur paling rendah yaitu $0,017 \pm 0,003$ mm/g.det, sedangkan rata-rata tekstur tertinggi terdapat pada penggunaan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* sebanyak 7,5 % yaitu $0,024 \pm 0,004$ mm/g.det. tekstur nata diduga dipengaruhi oleh kadar air dan serat kasar. Sehubungan dengan hal tersebut Winarno (1984) menyatakan bahwa nilai tekstur produk pangan di pengaruhi oleh kadar airnya. Lebih lanjut De Man (1989) menuliskan bahwa struktur kimia fisik merupakan efek daari susunan air yang terserap dan berpengaruh terhadap tekstur. Kekerasan tekstur berkaitan erat dengan kerapatan jaringan selulosa dan diduga ikatan β , 1-4 glikosida yang terbentuk lebih rapat sehingga tekstur nata cenderung lebih keras. Menurut Berk (1980) dalam Ristanti (2002) kekerasan nata disebabkan gel nata mempunyai kandungan serat-serat selulosa yang terdiri dari sekumpulan serat-serat yang pararel satu dengan yang lainnya sehingga mempunyai struktur yang stabil. Nata yang mempunyai struktur serat yang longgar maka nilai tekstur nata tersebut akan lebih lunak.

Hasil analisa regresi menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi starter yang berbeda terhadap tekstur nata de seaweed. Grafik hubungan antara konsentrasi starter dengan tekstur dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan tekstur nata

Hasil analisa regresi pada Lampiran 8 diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi starter dengan tekstur nata de seaweed berbentuk kuadratik dengan persamaan regresi

$$y = 0,204989 - 0,0084791x + 0,0002388 x^2$$

Nilai R-Sq(adj) dari gambar di atas sebesar 89,9%, artinya perlakuan konsentrasi starter mempengaruhi nilai rendemen nata de seaweed sebesar 89,9%. Nilai optimal penggunaan starter dapat diketahui dengan perhitungan pada turunan fungsi kuadrat dari regresi diatas. Perhitungan tersebut menunjukkan adanya titik optimum pada 17,75% artinya penggunaan starter sebanyak 17,75% (v/v) merupakan konsentrasi optimal untuk mendapatkan nata dengan tekstur minimal.

4.3 Perubahan pada Media Sisa Nata de Seaweed

Akibat aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum* menghasilkan produk nata, dalam media fermentasi terjadi perubahan terhadap beberapa faktor yang mendukung adanya

fermentasi nata yaitu pH dan DO. Adapun data yang berkaitan dengan hal tersebut tercantum pada Tabel 8. Dalam tabel tersebut juga tertera densitas bakteri sebagai akibat terjadinya produksi nata dan perubahan kedua faktor tersebut.

Tabel 8. Perubahan pada Media Sisa Nata de Seaweed

Parameter	Konsentrasi Starter <i>Acetobacter xylinum</i> (v/v) (%)						
	7,5	10,5	12,5	15	17,5	20	22,5
pH	4,26	4,15	4,08	3,98	3,83	3,74	3,78
DO (mg/L)	1,97	1,55	1,24	0,98	0,80	0,67	0,59
Konsentrasi bakteri (10 ⁶ cfu/ml)	5,60	6,13	6,13	4,61	3,76	3,59	3,13

4.3.1 pH

Media cairan sisa fermentasi nata de seaweed pada penelitian mempunyai pH berkisar antara 3,7400 sampai 4,2633. Hasil analisa ragam di Lampiran 9 menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi starter memberikan pengaruh sangat nyata ($p = 0,000$) terhadap nilai rata-rata pH media sisa fermentasi. Adapun nilai pH rata-rata media sisa fermentasi dapat dilihat pada Tabel 9.

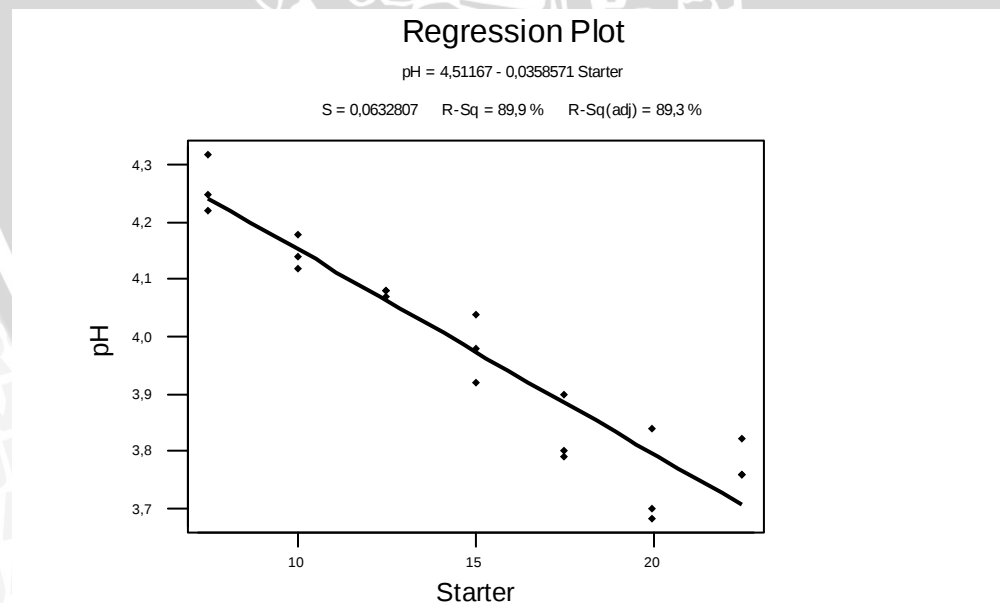
Tabel 9. Rata-rata pH media sisa fermentasi nata de seaweed

Starter (%)	Rata-rata	Notasi*
7,5	4,26±0,05	de
10	4,15±0,03	d
12,5	4,08±0,01	cd
15	3,98±0,06	c
17,5	3,83±0,06	ab
20	3,74±0,09	a
22,5	3,78±0,03	a

*) Keterangan : Notasi yang sama tidak ada beda nyata.

Dari tabel tersebut diatas diketahui bahwa rata-rata pH tertinggi terdapat pada perlakuan penggunaan starter 7,5% yaitu 4,26 dan rata-rata pH terendah terdapat pada perlakuan penggunaan starter 20% yaitu 3,74. Peningkatan konsentrasi starter (v/v) mengakibatkan penurunan pH media. Selama fermentasi bakteri *Acetobacter xylinum* selain membentuk pelikel nata juga merombak glukosa menjadi asam-asam organik.

Konsentrasi starter (v/v) yang semakin tinggi menyebabkan peningkatan kecepatan metabolisme. Menurut Gromet *et.al.* (1957), penurunan pH disebabkan oleh aktivitas pertumbuhan dan metabolisme bakteri *Acetobacter xylinum*. Bakteri *Acetobacter xylinum* mengoksidasi sebagian besar konsentrasi glukosa menjadi asam glukonat dan akumulasi asam glukonat menyebabkan penurunan pH. Hasil analisa regresi menunjukkan bahwa adanya hubungan antara perlakuan penggunaan starter yang berbeda (v/v) terhadap pH media sisa fermentasi nata yang ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik hubungan konsentrasi starter (v/v) dengan pH akhir media nata

Berdasarkan analisa regresi diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan pH media sisa fermentasi berbentuk linier dengan persamaan:

$$y = 4,51167 - 0,0358571x$$

Persamaan ini menunjukkan bahwa semakin banyak konsentrasi starter (v/v), maka penurunan pH akhir cairan fermentasi semakin tinggi. Nilai R-Sq(adj) dari hubungan antara perlakuan pengenceran dengan pH media sisa fermentasi sebesar 89,3% yang berarti bahwa pH media sisa fermentasi nata dipengaruhi oleh perlakuan pengenceran media fermentasi sebesar 89,3%.

4.3.2 DO

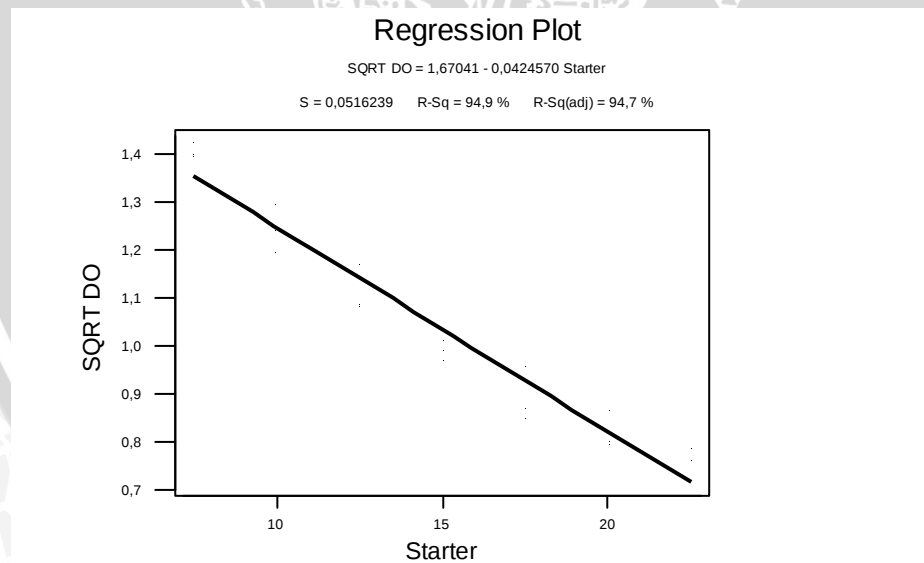
Media cairan sisa fermentasi nata de seaweed pada penelitian mempunyai DO berkisar antara 0,59 mg/l sampai dengan 0,95 mg/l. Hasil analisa ragam pada Lampiran 10 menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi starter memberikan pengaruh sangat nyata ($p = 0,000$) terhadap nilai rata-rata DO media sisa fermentasi. Adapun nilai DO rata-rata media sisa fermentasi dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Rata-rata DO media sisa fermentasi nata de seaweed

Starter (%)	Rata-rata (mg/l)	Notasi*
7,5	1,97±,015	f
10	1,55±0,05	e
12,5	1,24±0,05	d
15	0,98±0,02	c
17,5	0,80±0,06	b
20	0,67±0,04	ab
22,5	0,59±,015	a

*) Keterangan : Notasi yang sama tidak ada beda nyata.

Tabel rata-rata menunjukkan bahwa kadar DO terendah terdapat pada perlakuan penggunaan starter 22,5% yaitu 0,59 mg/l dan kadar DO yang tertinggi terdapat pada perlakuan penggunaan starter 7,5% yaitu sebesar 1,97 mg/l . Hal ini diduga karena pada peningkatan penggunaan starter terjadi peningkatan konsumsi oksigen yang lebih tinggi sebagai akibat dari banyaknya jumlah bakteri *Acetobacter xylinum* yang ada dalam media. Menurut Hestrin dan Schram (1956), bahwa nata tidak akan terbentuk jika dalam media tidak tersedia glukosa dan oksigen. Oksigen terlarut dalam media diperlukan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* dalam aktifitasnya karena bakteri tersebut bersifat aerobik. Hasil analisa regresi terhadap kadar DO pada Lampiran 10 menunjukkan bahwa adanya hubungan antara perlakuan penggunaan konsentrasi starter yang berbeda (v/v) terhadap kadar DO media sisa fermentasi nata yang disajikan pada Gambar 9.



Gambar 9. Grafik hubungan antara konsentrasi starter dengan kadar DO.

Berdasarkan gambar diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan oksigen terlarut (DO) media sisa fermentasi berbentuk linear dengan persamaan:

$$y = 1,67041 - 0,0424570x.$$

Nilai R-Sq(adj) dari hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan kadar oksigen terlarut media sisa fermentasi nata sebesar 94,7%. Hal ini berarti kadar oksigen terlarut (DO) dipengaruhi oleh konsentrasi starter (v/v) sebesar 94,7%.

Oksigen merupakan kebutuhan vital bagi bakteri *Acetobacter xylinum*. Pada media fermentasi statis seperti pada penelitian ini, ketersediaan oksigen sangat terbatas. Upaya peningkatan ketersediaan oksigen terlarut pada media fermentasi nata perlu dilakukan. Beberapa inventor dalam industri nata telah mengupayakan sebuah sistem inkubasi yang dapat menjamin pasokan oksigen terlarut dalam media nata tanpa mengganggu produktivitas *Acetobacter xylinum* dalam memproduksi selulosa bakteri. Sistem dan teknologi yang telah dirancang untuk produksi selulosa bakteri dengan konsep seperti diatas yaitu bubble colom system dan air-lifth reactor (Cheng, *et.el.*, 2003), Rotating Biological Contactor Reactor (RBC) (Tiong, 2001 dalam Holmes, 2005), dan Rotating disk bioreactor (RDB) (Bungay, 2005). Keterbatasan jumlah oksigen juga diduga menyebabkan kematian pada sejumlah besar bakteri dalam media fermentasi. Sehingga penerapan teknologi diatas perlu untuk di uji cobakan pada media yang berasal dari limbah perebusan SRC sehingga dapat menekan angka kematian bakteri.

4.3.3 Konsentrasi Bakteri pada Akhir Fermentasi

Setelah periode fermentasi berakhir maka konsentrasi bakteri pada akhir masa inkubasi dihitung dengan menggunakan metode hitung cawan. Prinsip metode hitung cawan adalah jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada media agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dapat dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Fardiaz, 1992).

Media agar yang digunakan dalam penelitian ini adalah media Hestrin and Schramm, dimana media ini sering digunakan dalam penelitian tentang pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* (Holmes, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa konsentrasi bakteri *Acetobacter xylinum* pada akhir masa inkubasi adalah berkisar antara $3,13 \times 10^6$ cfu/ml hingga $6,13 \times 10^6$ cfu/ml. Hasil analisa Kruskal Wallis pada Lampiran 11 menunjukkan bahwa ada beda nyata ($p=0,004$) terhadap konsentrasi rata-rata bakteri pada akhir inkubasi. Adapun rata-rata konsentrasi bakteri media sisa fermentasi dapat dilihat pada Tabel 11.

Tabel 11. Konsentrasi rata-rata bakteri pada media sisa fermentasi nata de seaweed

Starter (%)	Rata-rata (10^6 cfu/ml)	Notasi*
7,5	5,60	a
10	6,13	ab
12,5	6,13	ab
15	4,61	ab
17,5	3,76	ab
20	3,59	b
22,5	3,13	b

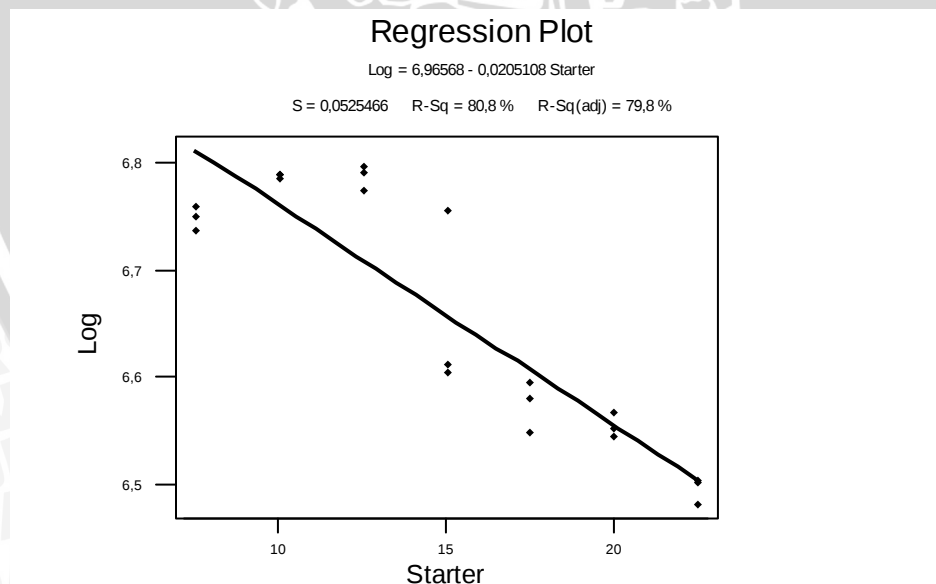
*) Keterangan : Notasi yang sama tidak ada beda nyata.

Dari tabel tersebut diatas diketahui bahwa konsentrasi rata-rata bakteri tertinggi terdapat pada perlakuan penggunaan starter 10% dan 12,5% yaitu $6,1 \times 10^6$ cfu/ml dan konsentrasi rata-rata bakteri terendah terdapat pada perlakuan penggunaan starter 22,5% yaitu $3,1 \times 10^6$ cfu/ml. Peningkatan konsentrasi starter (v/v) mengakibatkan perubahan pada konsentrasi bakteri pada akhir masa inkubasi. Konsentrasi rata-rata bakteri pada penggunaan perlakuan starter 7,5 % hingga 12,5% cenderung mengalami peningkatan. Tetapi pada perlakuan konsentrasi starter 15% keatas cenderung mengalami penurunan

pada konsentrasi rata-rata bakteri akhirnya. Hal ini diduga berhubungan dengan semakin besarnya konsentrasi bakteri maka laju pertumbuhan bakteri semakin cepat. Hal ini berdampak pada peningkatan konsumsi nutrisi (Mormino, 1999).

Penurunan konsentrasi bakteri pada media akhir fermentasi diduga berhubungan dengan sifat bakteri yaitu aerobik. Terbentunya nata diatas media fermentasi menghambat masuknya oksigen ke dalam media, sehingga bisa dikatakan media fermentasi nata yang berbentuk statis merupakan media yang terbatas jumlah oksigen terlarutnya. Karena terbatasnya jumlah oksigen terlarut ini maka juga akan menghambat metabolisme dan pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum*..

Hasil analisa regresi menunjukan bahwa adanya hubungan antara perlakuan penggunaan starter yang berbeda (v/v) terhadap konsentrasi rata-rata bakteri pada media sisa fermentasi nata yang ditunjukan pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik hubungan konsentrasi starter (v/v) dengan konsentrasi bakteri akhir pada media fermentasi nata

Berdasarkan analisa regresi diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi starter (v/v) dengan konsentrasi rata-rata bakteri akhir media sisa fermentasi berbentuk linier dengan persamaan dalam logaritma:

$$\text{Log } y = 6,96568 - 0,0205108 \text{ Starter}$$

Persamaan ini menunjukkan bahwa semakin banyak konsentrasi starter (v/v), maka penurunan konsentrasi rata-rata bakteri media akhir cairan fermentasi semakin tinggi. Nilai R-Sq(adj) dari hubungan antara perlakuan pengenceran dengan konsentrasi rata-rata bakteri media sisa fermentasi sebesar 79,8% yang berarti bahwa konsentrasi rata-rata bakteri media sisa fermentasi nata dipengaruhi oleh perlakuan pengenceran media fermentasi sebesar 79,8%

4.4 Penentuan Perlakuan Terbaik

Penentuan perlakuan terbaik dilakukan dengan menggunakan metode indeks efektifitas De Garmo (Susrini, 2005) dengan prosedur perhitungan tercantum pada Lampiran 12. Pada perhitungan penentuan perlakuan terbaik diketahui bahwa perlakuan konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* 15 % menunjukkan nilai dan efektifitas paling tinggi yaitu 0,8538. Nata de Seaweed sebagai perlakuan terbaik memiliki karakteristik sebagaimana yang disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Karakteristik nata de seaweed pada perlakuan terbaik

No.	Karakteristik	Jumlah
1.	Ketebalan (mm)	25,61
2.	Rendemen (%)	57,88
3.	Serat Kasar (%)	4,88
4.	Kadar Air (%)	91,79
5.	Tekstur (mm/g det)	0,02

Produk yang dihasilkan dari perlakuan terbaik diuji dan dianalisa lebih lanjut pada aspek derajat kristalinitas, dan kadar logam berat Pb dan Hg. Data hasil uji derajat kristalinitas, dan kadar logam berat Pb dan Hg disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Kualitas selulosa pada perlakuan terbaik

Perlakuan	Derajat Kristalinitas (%)	Hg (ppm)	Pb (ppm)
Konsentrasi starter 15 % (v/v)	25,19	0,00	0,03

Pada setiap media fermentasi, kemampuan bakteri *Acetobacter xylinum* berbeda (Budiyanto,2002). Perbedaan jenis media ini diduga akan berpengaruh pada kemampuan dan daya adaptasi, pertumbuhan, dan metabolisme bakteri, sehingga akan berpengaruh pada hasil produksi nata. Berdasarkan hal ini maka untuk mengetahui daya adaptasi dan pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* dalam limbah perebusan SRC diamati dan dianalisa lebih lanjut selama periode fermentasi secara periodik.

4.5 Kualitas Produk Selulosa pada Perlakuan Terbaik

4.5.1 Derajat Kristalinitas

Derajat kristalinitas nata de seaweed pada penelitian adalah sebesar 25,19 %. Derajat kristalinitas nata de seaweed ditentukan berdasarkan hasil analisa difraksi sinar X. Difraksi Sinar-X digunakan terutama untuk menentukan struktur kristal suatu bahan. Benda padat (solid) memiliki dua bagian yaitu amorf (tidak beraturan) dan kristalin (beraturan). Ketika sinar-X mengenai suatu lapisan atom dalam suatu kristal, maka sinar-x akan terdifraksi/dihamburkan secara kohoren. Jika hal ini diulang pada beberapa lapisan, hamburan sinar-X yang tegak atau naik, maka cukup kuat untuk dideteksi dengan detektor sinar-X (Stevens, 2001). Struktur kristal dari suatu sampel ditandai

dengan munculnya puncak-puncak spesifik pada grafik hasil pengukuran. Adapun hasil analisa difraksi sinar x disajikan pada Lampiran 13.

Hasil analisa derajat kristalinitas produk polimer khususnya nata, dipengaruhi oleh kemurnian dan persentase faktor pencemar didalamnya (Klug and Alexander, 1965). Beberapa senyawa polimer seperti gula diduga juga memiliki derajat kristalinitas. Sehingga konsentrasi sisa gula yang tidak didekomposisi oleh *Acetobacter xylinum* didalam nata, akan membiaskan analisa X-ray detektor.

4.5.2 Logam Berat (Pb dan Hg)

Logam Pb (timbal) dan Hg (merkuri) merupakan jenis bahan pencemar dilaut, selain menimbulkan penurunan kualitas dan produktifitas perairan laut juga dapat menimbulkan keracunan. Hg dan Pb merupakan unsur logam yang berbahaya yang dapat menimbulkan penyakit pada manusia apabila terakumulasi pada organisme perairan yang dimakan oleh manusia (Siahanenia, 2001). Daya racun (*toxicity*) merkuri tergantung bentuk fisik dan kimianya. Merkuri atau air raksa atau hydrargyricum (Hg), merupakan satu-satunya logam yang pada suhu kamar berwujud cair, tidak berbau, berwarna keperakan, dan mengkilap (Anonymous, 2006c). Bahaya merkuri bagi kesehatan, jelasnya, adalah senyawa merkuri yang lebih dikenal dengan sebutan air raksa jika terakumulasi di dalam tubuh manusia dapat mengakibatkan kerusakan susunan saraf pusat, kerusakan ginjal, kerusakan hati, gangguan mental, kebutaan, dan gangguan pada sistem reproduksi (Anonymous, 2006d). Senyawa merkuri yang mudah larut umumnya lebih beracun. Tingkat dosis yang menyebabkan kematian (lethal dosis 100 atau LD₁₀₀) dapat tercapai bila merkuri tertelan sebanyak 0,2-1 gram. Senyawa

merkuri yang berbahaya bagi tubuh mikroorganisme maupun manusia adalah metilmerkuri (Soebagio, 1986).

Dari hasil analisa logam berat, kandungan timbal (Pb) 0,032 ppm dan merkuri (Hg) nol ppm. Kandungan logam berat Pb ini masih lebih rendah bila dibandingkan dengan standart mutu nata yang ditetapkan oleh SNI (Standart Nasional Indonesia) yaitu maksimal 0,2 mg/Kg.

4.6 Analisa Deskriptif terhadap Perlakuan Terbaik

4.6.1 Laju Pertumbuhan Bakteri

Penelitian tentang kajian pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* pada media fermentasi yang berasal dari limbah perebusan *Semi Refined Carrageenan Eucheuma cottonii* merupakan salah satu usaha untuk mengkaji upaya peningkatan nilai tambah pada limbah hasil perikanan, khususnya limbah proses pengolahan rumput laut jenis *Eucheuma cottonii*. Dalam penelitian ini digunakan bakteri *Acetobacter xylinum* dalam bentuk starter yang diperoleh dari laboratorium Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Starter bakteri ini memiliki kepadatan $5,4 \times 10^8$ cfu/ml. Starter merupakan populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi. Starter dibuat dengan menginokulasikan biakan murni dari agar-agar miring pada media Hestrin dan Scramm. Starter baru dapat digunakan 6 hari setelah inokulasi dan maksimal berusia 9 hari dari inokulasi (Anonymous, 2001).

Hasil pengamatan laju pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* pada media fermentasi dari limbah SRC menunjukkan bahwa *Acetobacter xylinum* mampu

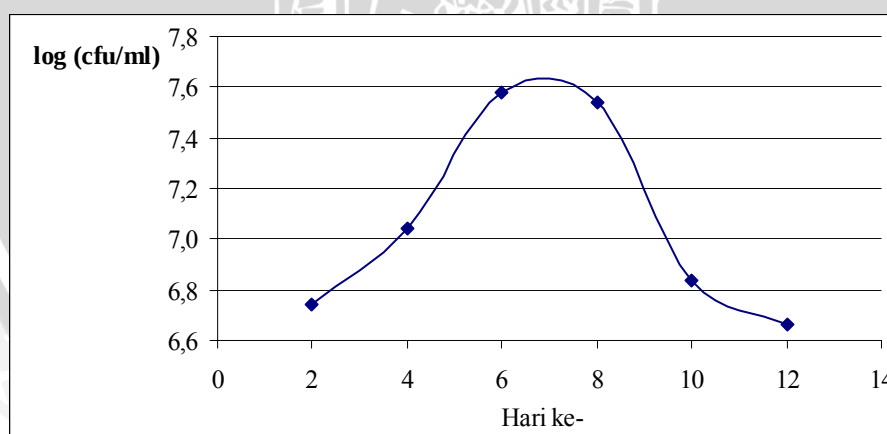
beradaptasi dan tumbuh sebagaimana pada media organik pertanian seperti air kelapa.

Data dan ilustrasi pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* dalam media fermentasi dari limbah SRC tertera pada Tabel 14.

Tabel 14. Data pengamatan laju pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* dalam media fermentasi dari limbah SRC.

Pengamatan Hari ke-	Jumlah Koloni (10^7 cfu/ml)				Log (cfu/ml)
	Ulangan			Rata-rata	
	1	2	3		
2	0,7	0,4	0,5	0,6	6,7
4	1,3	1,1	0,9	1,1	7,0
6	4,2	3,8	3,3	3,8	7,6
8	3,3	4,0	3,1	3,5	7,5
10	0,8	0,8	0,5	0,7	6,8
12	0,6	0,5	0,4	0,5	6,7

Sedangkan Ilustrasi tentang pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* selama periode fermentasi tertera pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik laju pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* dalam media fermentasi dari limbah SRC.

Hasil pengamatan ini menunjukkan bahwa bakteri *Acetobacter xylinum* dalam media fermentasi dari limbah SRC mampu tumbuh dengan normal. Hasil penelitian ini

menunjukkan bahwa bakteri ini mencapai puncak fase logaritmik pada hari ke-6, mengalami fase stasioner hingga hari ke-8, dan mengalami penurunan jumlah bakteri secara drastis pada hari ke-10. Krystynowicz *et.al.* (2002) melaporkan bahwa laju pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* dalam media Hestrin dan Schramm dengan kultur stasioner, mencapai puncak fase logaritmik pada hari ke-3 dan mengalami penurunan mulai hari ke-4 dan seterusnya.

Sebaliknya penurunan secara cepat pada jumlah koloni bakteri per ml selama masa fermentasi antara hari ke-8 dan ke-10 diduga oleh kegiatan bakteri dalam menghasilkan selulosa bakteri. Bakteri *Acetobacter xylinum* terjebak dalam matrik selulosa yang dibentuknya. Matrik nata berbentuk seperti susunan matrik keju sehingga memungkinkan bakteri untuk keluar (Hestrin and Schramm, 1954).

4.6.2 pH

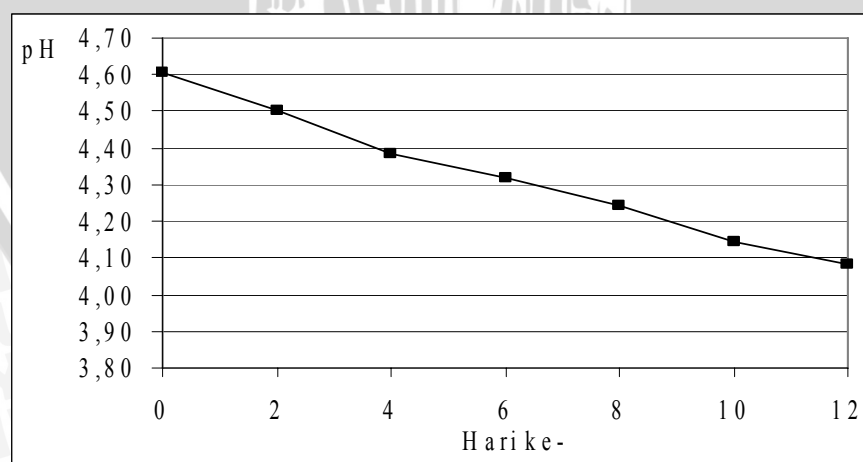
Media fermentasi berasal dari limbah proses pengolahan rumput laut menjadi SRC. Limbah SRC bersifat basa pada kisaran pH 12,5. Webb and Ross (1962), melaporkan bahwa sebanyak 90% dari sel *Acetobacter xylinum* mengalami lisis akibat selama 2 jam berada pada pH 8,1 dengan bufer larutan fosfat dan sitrat.

Penurunan pH perlu dilakukan dengan penambahan asam asetat glasial sebanyak 1,58% agar pH media turun hingga kisaran 4-5 (Pradana, 2006). Hal ini didasarkan bahwa bakteri *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri acidofilik yang mampu tumbuh secara optimal pada kisaran pH 4-5 (Budiyanto, 2002). Berdasarkan hasil pengamatan selama masa fermentasi, perubahan pH, dan suhu media pada saat pengukuran tertera pada Tabel 15.

Tabel 15. Data pengamatan perubahan pH, dan suhu media fermentasi nata.

Pengamatan Hari ke-	Ulangan						Rata-rata	
	1		2		3			
	pH	Suhu (°C)	pH	Suhu (°C)	pH	Suhu (°C)	pH	Suhu (°C)
0	4,63	26,90	4,61	26,90	4,58	26,70	4,61	26,80
2	4,49	25,80	4,52	25,90	4,49	25,80	4,50	25,80
4	4,38	26,70	4,38	26,60	4,39	26,70	4,38	26,70
6	4,31	26,20	4,32	26,20	4,32	26,30	4,32	26,20
8	4,25	26,60	4,24	26,50	4,24	26,50	4,24	26,50
10	4,15	26,40	4,13	26,50	4,15	26,40	4,14	26,40
12	4,09	26,70	4,08	26,30	4,08	26,40	4,08	26,50

Selama masa inkubasi, pada media fermentasi terjadi perubahan pH. Perubahan ini terjadi pada awal masa inkubasi dengan kisaran pH awal sebesar 4,6 dan 4,08 pada akhir masa inkubasi. Ilustrasi penurunan pH disajikan pada Gambar 12. Penurunan pH disebabkan oleh aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum*. Bakteri *Acetobacter xylinum* mengoksidasi sebagian besar konsentrasi glukosa menjadi asam glukonat, dan akumulasi asam glukonat menyebabkan penurunan pH (Gromet *et.al.*, 1957).



Gambar 12. Grafik perubahan pH media fermentasi dari limbah SRC.

4.6.3 DO (*Dissolved Oxygen*) atau Oksigen terlarut

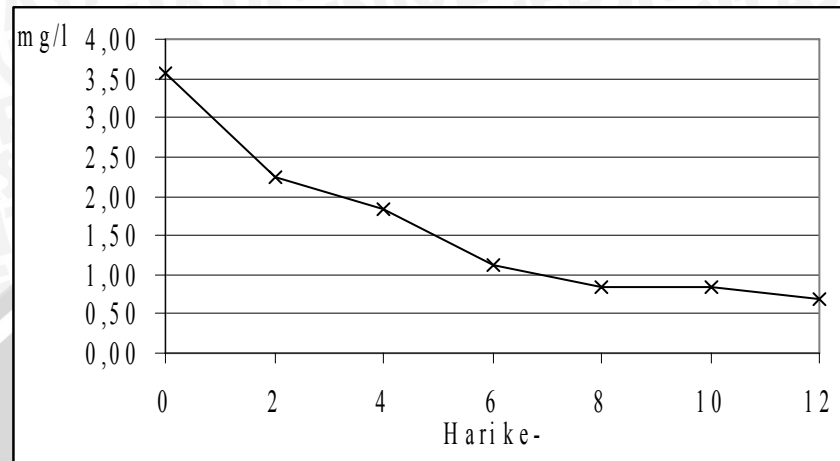
Pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* dipengaruhi oleh tersedianya oksigen terlarut (DO) dalam media fermentasi. Bakteri *Acetobacter xylinum* termasuk dalam kelompok bakteri aerobik obligate. Oksigen diperlukan untuk pertumbuhan sel dan produksi selulosa (Brown,1985). Menurut Rahman (1992), bahwa kecepatan perpindahan oksigen dari lingkungan ke dalam media dipengaruhi oleh kepekatan media tersebut. Berdasarkan hal tersebut maka sebelum dijadikan sebagai media nata, limbah SRC diencerkan terlebih dahulu agar terjadi penurunan kepekatan media dan DO-nya juga mengalami peningkatan. Nilda (2006), mengemukakan bahwa pengenceran limbah perebusan SRC terhadap air dengan perbandingan sebesar 1:13 merupakan perlakuan dengan hasil terbaik pada pembuatan media fermentasi nata de seaweed.

Hasil pengamatan pada perubahan DO selama masa fermentasi pada media nata menunjukkan adanya penurunan konsentrasi DO. Data perubahan DO dan suhu pada saat pengukuran tercantum pada Tabel 16.

Tabel 16. Data pengamatan perubahan DO dan suhu media fermentasi nata.

Pengamatan Hari ke-	Ulangan						Rata-rata	
	1		2		3			
	DO (mg/l)	Suhu (°C)	DO (mg/l)	Suhu (°C)	DO (mg/l)	Suhu (°C)	DO (mg/l)	Suhu (°C)
0	3,58	26,90	3,59	26,90	3,52	26,70	3,56	26,80
2	2,27	25,80	2,29	25,90	2,18	25,80	2,25	25,80
4	1,93	26,70	1,75	26,60	1,82	26,70	1,84	26,70
6	1,02	26,20	1,08	26,20	1,23	26,30	1,11	26,20
8	0,91	26,60	0,75	26,50	0,90	26,50	0,85	26,50
10	0,86	26,40	0,80	26,50	0,88	26,40	0,84	26,40
12	0,58	26,70	0,79	26,30	0,69	26,40	0,69	26,50

Sedangkan gambaran dari hasil tersebut tertera pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik perubahan DO media fermentasi dari limbah SRC.

Kadar oksigen terlarut media fermentasi mengalami penurunan secara cepat antara hari ke-4 dan hari ke-6. Penurunan ini terjadi bersamaan adanya peningkatan jumlah bakteri secara cepat. Hal ini menunjukkan bahwa selama periode tersebut telah terjadi konsumsi oksigen terlarut yang tinggi untuk pertumbuhan bakteri. Hestrin dan Schramm (1954), menegaskan bahwa bakteri *Acetobacter xylinum* tidak akan tumbuh dan menghasilkan selulosa tanpa adanya oksigen dan glukosa. Tantratian, *et.al.* (2005) mengemukakan bahwa penurunan kadar DO pada media kultur statis selain disebabkan oleh aktivitas bakteri yang tinggi juga disebabkan oleh adanya pelikel nata diatas media fermentasi yang menghambat masuknya udara bebas kedalam media.

4.6.4 Hubungan Laju Pertumbuhan Bakteri terhadap Produksi Nata

Selulosa merupakan tujuan utama dalam penelitian, pengembangan dan produksi pemanfaatan bakteri penghasil selulosa. Selulosa yang dihasilkan bakteri atau yang lazim dikenal sebagai selulosa bakteri memiliki keunggulan dalam kemurnian dibandingkan selulosa yang berasal dari tumbuhan tingkat tinggi, *Oocystis*,

Glaucocystis, dan lumut spesies *Dictyostelium discoideum* (Brown,1992). Salah satu contoh selulosa bakteri adalah nata. Nata merupakan selulosa bakteri yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* (Pambayun, 2002).

Penelitian tentang pembuatan nata de seaweed dari limbah perebusan SRC merupakan salah satu bagian dari penelitian jangka panjang dalam rangka menghasilkan selulosa bakteri. Selain itu penelitian ini juga memiliki misi upaya pemanfaatan limbah rumput laut khususnya dari proses perebusan rumput laut menjadi *Semi Refined Carrageenan* (SRC). Berdasarkan pengamatan selama masa inkubasi terhadap peningkatan ketebalan dan peningkatan berat nata diperoleh hasil bahwa pembentukan nata secara nyata dimulai pada hari ke-4 masa inkubasi. Nata yang terbentuk terus mengalami peningkatan ketebalan hingga akhir periode inkubasi yakni pada hari ke-12. Peningkatan dimensi nata juga diikuti dengan pertambahan berat nata. Adapun data mengenai pertambahan ketebalan dan berat nata tertera pada Tabel 17 dan Tabel 18. Selanjutnya data tersebut diilustrasikan pada Gambar 13 dan Gambar 14.

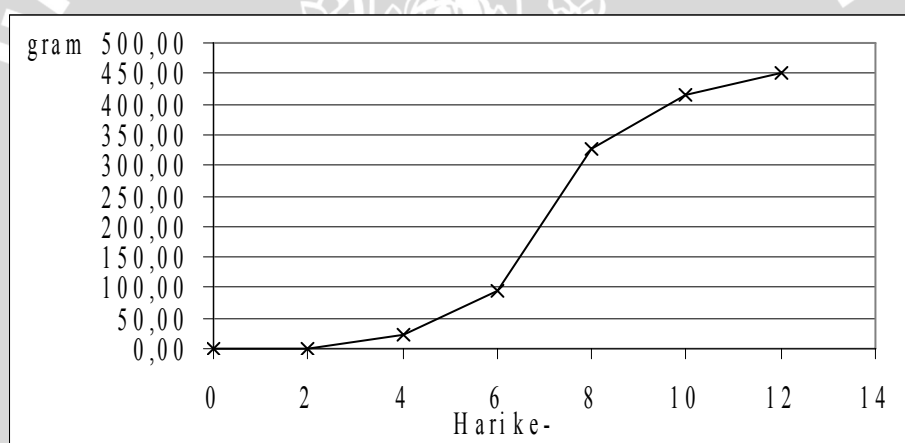
Tabel 17. Pertambahan ketebalan nata de seaweed selama masa fermentasi nata.

Pengamatan Hari ke-	Tebal (mm)			
	1	2	3	Rata-rata
0	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00
4	1,13	1,06	1,13	1,10
6	7,30	7,31	9,41	8,01
8	16,91	16,16	16,95	16,67
10	23,15	22,88	23,28	23,10
12	25,44	25,69	25,26	25,46

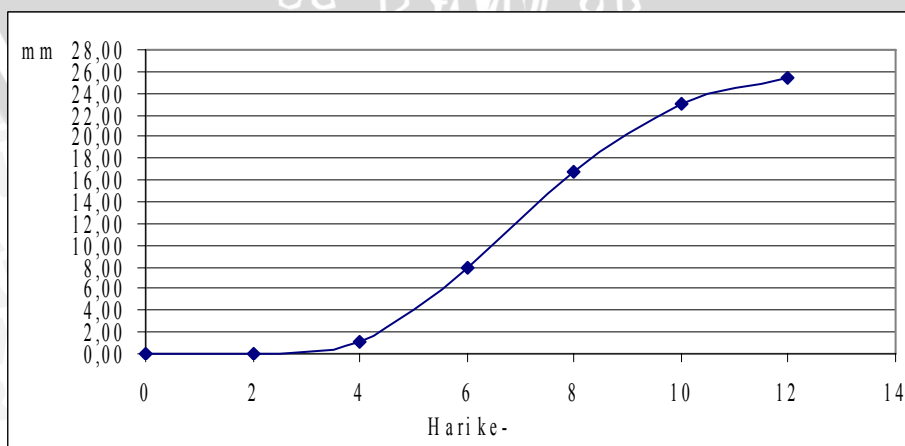
Tabel 18 Pertambahan berat nata de seaweed selama masa fermentasi nata.

Pengamatan Hari ke-	Massa (g)			Rendemen (%)			Rata-rata	
	1	2	3	1	2	3	Massa	Rendemen
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
4	6,85	5,81	6,15	0,91	0,77	0,82	6,27	0,84
6	94,25	94,25	94,25	12,57	12,57	12,57	94,25	12,57
8	338,40	327,60	344,40	45,12	43,68	45,92	336,80	44,91
10	414,00	420,00	412,80	55,20	56,00	55,04	415,60	55,41
12	456,92	451,39	446,08	60,92	60,18	59,48	451,46	60,19

Grafik perubahan massa dan rendemen tertera pada Gambar 14 dan Gambar 15.

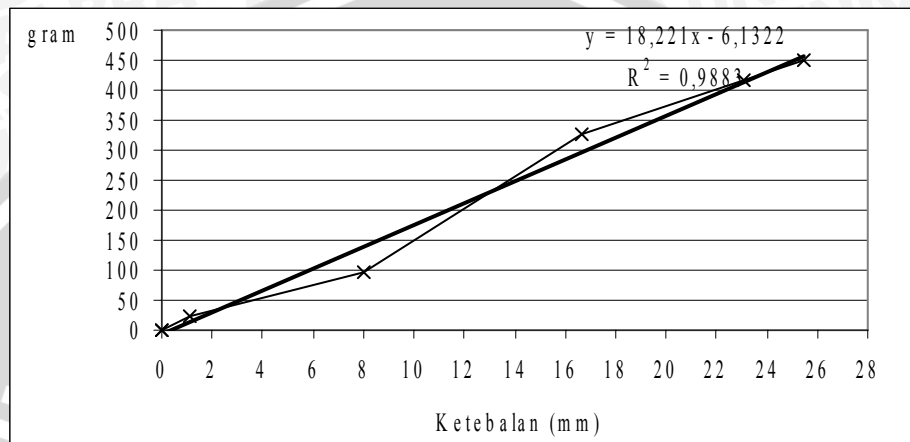


Gambar 14. Grafik pertambahan ketebalan nata de seaweed selama masa fermentasi.



Gambar 15. Grafik pertambahan berat nata de seaweed selama masa inkubasi.

Apabila diamati lebih lanjut, pada kedua grafik diatas maka pertambahan ketebalan nata akan sebanding dengan pertambahan beratnya. Gambaran hubungan kedua parameter diilustrasikan pada Gambar 16.



Gambar 16. Grafik hubungan pertambahan ketebalan dan berat nata de seaweed.

Dimana hubungan korelasi antara kedua parameter tersebut menurut persamaan:

$$y = 18,221x - 6,1322$$

Korelasi antara kedua parameter tersebut diatas adalah korelasi positif. Nilai R-Sq dari hubungan antara pertambahan ketebalan dengan pertambahan berat adalah 98,83. Hal ini berarti pertambahan berat dipengaruhi oleh perubahan ketebalan nata sebesar 98,83%.

4.6.5 Hubungan Laju pertumbuhan bakteri terhadap Kadar Nitrogen

Unsur nitrogen merupakan unsur vital bagi kehidupan makhluk hidup. Pertumbuhan serta aktivitas bakteri khususnya *Acetobacter xylinum* juga memerlukan sumber nitrogen yang memadai baik yang berasal dari bahan organik maupun bahan anorganik. *Acetobacter xylinum* memanfaatkan nitrogen untuk pertumbuhan dan produksi selulosa bakteri. Nutrisi yang mengandung senyawa nitrogen seperti ekstrak kamir, pepton, amonium sulfat, kalium nitrat dan amonium fosfat umum digunakan untuk pembuatan

nata (Sutarminingsih, 2004). Garam ZA merupakan sumber nitrogen anorganik terbaik dalam meningkatkan produksi nata de seaweed dari limbah perendaman SRC (Nur, 2006). ZA merupakan garam dengan gugus nitrogen berupa NH_3 (Anonymous, 2007).

Penambahan senyawa yang mengandung nitrogen dalam bentuk garam amonia akan meningkatkan konsentrasi senyawa ini dalam media fermentasi. Memahami konsep siklus nitrogen pada mikroorganisme, akan membawa pada pemahaman bahwa setiap mikroorganisme memiliki adaptasi dan tingkah laku berbeda terhadap kadar nitrogen. Beberapa literatur menyebutkan bahwa perbandingan yang seimbang antara unsur karbon (C) dan unsur nitrogen (N) pada media fermentasi dapat meningkatkan produksi nata secara optimal (Pambayun, 2002). Senyawa nitrogen sangat berperan dalam produksi pertumbuhan sel untuk menghasilkan asam amino (Ishihara, *et.al.*, 2002).

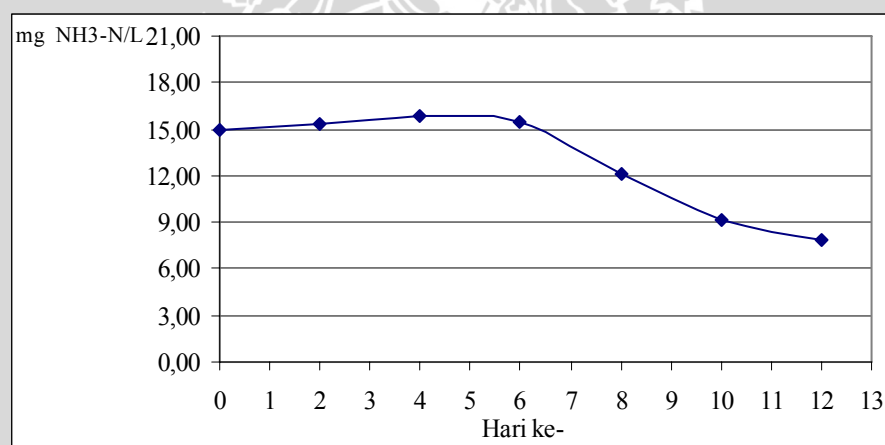
Pengujian konsentrasi nitrogen pada media nata de seaweed selama masa inkubasi diperlukan untuk mengetahui tingkat konsumsi nitrogen. Metode yang digunakan adalah metode Kjeldahl. Metode kjeldahl merupakan salah satu metode untuk menentukan konsentrasi total nitrogen dalam satuan mg $\text{NH}_3\text{-N/L}$. Metode ini direkomendasikan secara bersama-sama oleh American Public Health Association, American Water Work Association, dan Water Pollution Control Federation di Amerika dalam menganalisa kadar nitrogen dalam air (Greenberg *et.al.*, 1985).

Hasil uji total nitrogen menunjukkan terdapat perubahan kadar nitrogen pada media inkubasi. Jumlah total nitrogen mengalami kenaikan pada awal masa inkubasi hingga hari ke-6 dan menurun pada hari ke- 8 dan seterusnya. Pada hari ke-12 konsentrasi nitrogen yang tersisa kurang lebih setengah dari konsentrasi nitrogen awalnya. Adapapun data hasil pengamatan tercantum pada Tabel 19.

Tabel 19. Hasil uji kadar total nitrogen selama masa fermentasi nata de seaweed

Pengamatan Hari ke-	Total Nitrogen (mg NH ₃ -N/L)			
	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	14,83	14,34	15,69	14,96
2	15,42	14,69	15,82	15,31
4	15,94	15,42	16,14	15,83
6	15,29	16,16	14,77	15,41
8	10,74	11,10	14,41	12,08
10	9,07	8,32	10,09	9,16
12	9,26	7,57	6,82	7,88

Sedangkan gambaran tentang perubahan kadar total nitrogen dalam media fermentasi tertera pada Gambar 17.



Gambar 17. Grafik kadar nitrogen selama masa fermentasi nata de seaweed.

Peningkatan nitrogen pada masa inkubasi hingga hari ke-6. Peningkatan ini berhubungan dengan aktivitas pemecahan garam nitrogen yang ditambahkan pada media fermentasi. Sedangkan penurunan jumlah nitrogen terjadi setelah hari ke-6 dan seterusnya. Pada saat yang bersamaan juga terjadi peningkatan ketebalan nata yang signifikan. Berdasarkan saat tersebut nitrogen sangat berperan dalam proses produksi

selulosa bakteri. Menurut Sutarminingsih (2004), untuk merangsang pertumbuhan serta aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum* diperlukan adanya sumber nitrogen yang memadai baik yang berasal dari bahan organik maupun bahan anorganik seperti ekstrak khamir, pepton, amonium sulfat, kalium nitrat dan amonium fosfat.

Pembentukan lapisan nata pada permukaan media menyebabkan senyawa nitrogen terjebak dalam media fermentasi. Unsur nitrogen yang ada dalam media fermentasi berasal dari limbah SRC, ekstrak yeast, garam anorganik atau pupuk nitrogen yang ditambahkan seperti NPK (Nitrogen, Phosphor dan Kalium) dan ZA (Amonium sulfat). Secara alamiah air tawar juga mengandung sejumlah senyawa nitrogen yang jumlahnya beragam tergantung dari mana air tersebut diperoleh.

4.6.6 Hubungan Laju pertumbuhan Bakteri terhadap Kadar Gula Reduksi

Acetobacter xylinum mengkonversi substrat fruktosa menghasilkan selulosa dan CO₂. apabila substrat yang digunakan glukosa akan terbentuk glukonat lebih cepat dari pada selulosa dan CO₂. Meskipun demikian produksi selulosa yang dihasilkan dari substrat glukosa lebih besar dari pada fruktosa. Perbandingan molaritas konversi sukrosa ke selulosa dengan sukrosa kedalam bentuk CO₂ secara nyata lebih besar dari pada gabungan kedua jenis heksosa diatas (Weinhouse and Benziman, 1974).

Hasil uji gula reduksi media nata de seaweed selama masa inkubasi menunjukkan bahwa dengan menggunakan substrat sukrosa terjadi peningkatan kadar gula reduksi secara signifikan hingga mencapai 4,008 g/L pada hari ke-8. Pada hari ke-10 kadar gula reduksi mulai menurun hingga akhir masa inkubasi. Perubahan ini diduga oleh aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum* dalam memproduksi selulosa. Substrat glukosa menjadi

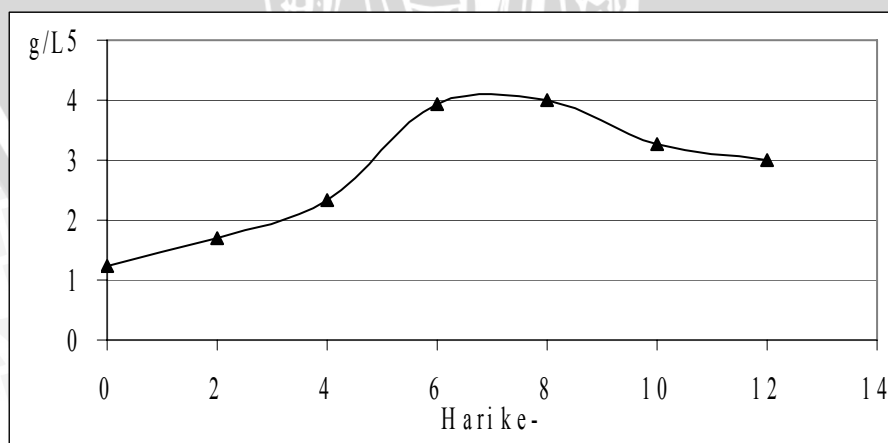
substrat utama dalam produksi selulosa bakteri. Hestrin dan Schramm (1954), menegaskan bahwa bakteri *Acetobacter xylinum* tidak akan tumbuh dan menghasilkan selulosa tanpa adanya oksigen dan glukosa. Diduga fruktosa yang digunakan dalam produksi selulosa terlebih dahulu harus melalui proses konversi kedalam bentuk glukosa.

Adapaun data hasil pengamatan tercantum pada Tabel 20.

Tabel 20. Hasil Uji kadar Gula Reduksi selama masa fermentasi nata de seaweed

Pengamatan Hari ke-	Gula Reduksi (g/L)			
	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
0	1,20	1,31	1,24	1,25
2	1,62	1,53	1,954	1,70
4	2,94	2,25	1,83	2,34
6	4,05	3,93	3,79	3,93
8	3,86	4,23	3,93	4,01
10	3,17	3,29	3,36	3,27
12	2,92	3,06	2,99	2,99

Sedangkan gambaran terhadap perubahan gula reduksi selama masa fermentasi tertera pada Gambar 18.



Gambar 18. Grafik kadar gula reduksi selama masa fermentasi nata de seaweed.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Penggunaan konsentrasi starter yang berbeda (v/v) terhadap media fermentasi nata de seaweed menunjukkan beda nyata terhadap ketebalan dan rendemen, dan berpengaruh nyata kadar air dan serat kasar, serta berpengaruh yang sangat nyata pada tekstur, konsentrasi rata-rata bakteri akhir, pH dan DO cairan sisa fermentasi.

Perlakuan terbaik diperoleh pada perlakuan penggunaan starter 15 % yang menghasilkan nata limbah SRC dengan karakteristik produk meliputi kadar air 91,79%, ketebalan 25,61 mm, rendemen 57,88 %, serat kasar 4,88 %, tekstur 0,017 mm/g.det, derajat Kristalinitas selulosa bakteri sebesar 25,19 % dan kadar logam berat dalam nata yang meliputi Pb (timbal) dan Hg (Merkuri) adalah sebesar 0,03 ppm dan 0,00 ppm.

Hasil penelitian deskriptif menunjukkan bahwa dalam media pertumbuhan yang berasal dari limbah perebusan *Semi Refined Carrageenan* (SRC), bakteri *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh dengan normal dan menghasilkan nata atau selulosa bakteri. Pertumbuhan puncak bakteri percapai setelah hari ke- 6 fermentasi. dan pembentukan Nata mulai terjadi pada hari ke-4. Selain itu diketahui bahwa setelah hari ke-12 pada media fermentasi masih terdapat sisa gula reduksi dan nitrogen.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan disarankan agar dilakukan pembuatan nata dari limbah perebusan SRC menggunakan konsentrasi starter 15% (v/v) sehingga dihasilkan nata de seaweed yang berkualitas baik dan penggunaan konsentrasi starter

(v/v) yang efektif. Selain itu juga perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang penggunaan media SRC pada metode kultur agitasi atau inkubasi dengan suplai udara (oksigen) secara terus menerus.



DAFTAR PUSTAKA

Anonymous, 2001. **Pengolahan Nata de Coco**. www.ipteknet.co.id. Filetype PDF. Akses pada 16 Februari 2006, Pukul 1:48:50

_____. 2003. **Pengolahan Ikan dan Hasil Laut**. Paket Teknologi 2. Badan riset Kelautan dan Perikanan. Departemen kelautan dan Perikanan. Jakarta

_____. 2004. **Pengolahan Nata De Coco**. www.bi.go.id/sipuk/lm/ind/nata_de_coco/produksi.htm. Akses pada 07 April 2004, 2:33:58

_____. 2005. **Cellulose**. www.lsbu.ac.uk. Accessed at March, 03, 2006, 6:23:20

_____. 2006. **Carrageenan; Production** www.cybercolloids.net. Accessed at February, 07, 2007,, 5:35:12

_____. 2006a. **Semi-refined carrageenan**. www.freepatentsonline.com/7018635.html. Accessed at July, 30, 2006, 12:44:38

_____. 2006b. **Cellulose**. <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu> Accessed at July, 30, 2006, 12:32:04

_____. 2006c. **Bahaya Logam Berat Bagi Kesehatan**. www.tabloidnova.com. Akses pada 19 Juli 2007, 18:49:12

_____. 2007. **ZA adalah Sumber Unsur Hara Belerang (S) dan Nitrogen (N)**. www.petrokimia-gresik.com/za.asp.htm. Akses pada 19 Juli 2007, 18:49:12

AOAC. 1990. **Official Methodes of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist**. AOAC. Washington DC.

_____. 1995. **Official Methodes of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist**. AOAC. Washington DC.

Astawan, M dan M.W. Astawan, 1990. **Teknologi Pangan Hasil Fermentasi**. Akademika Pressindo. Jakarta.

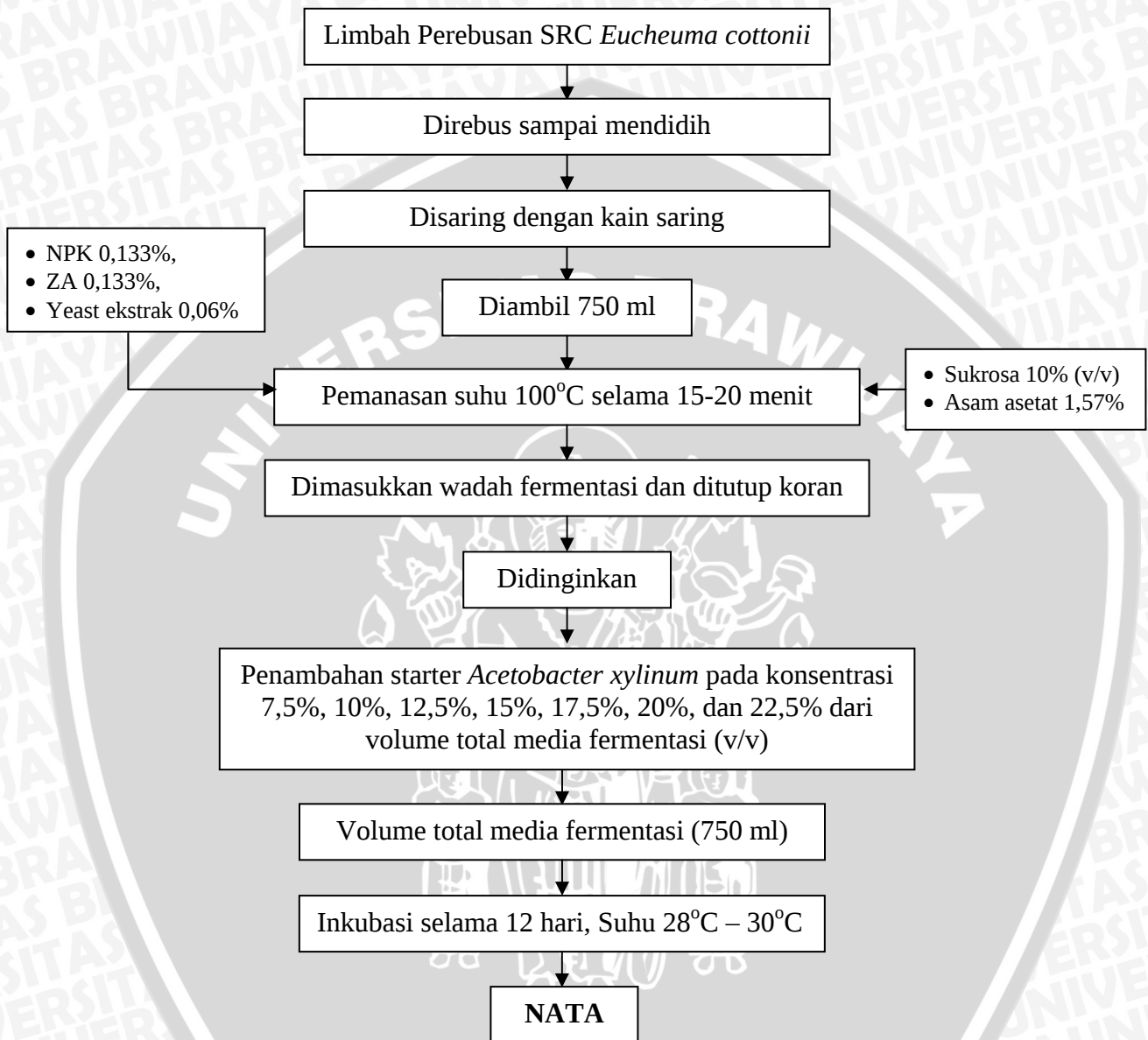
Bambang, BS, J.A. Sumardi, Ismadi, Purwo H, dan B. Budiprayitno. 1999. **Pengaruh lama perendaman dan konsentrasi KOH yang bervariasi terhadap kualitas ATC**. Jurnal Penelitian Ilmu-ilmu Hayati (Life Science) Vol. 11 No.1 Juni 1999. Universitas Brawijaya. Malang

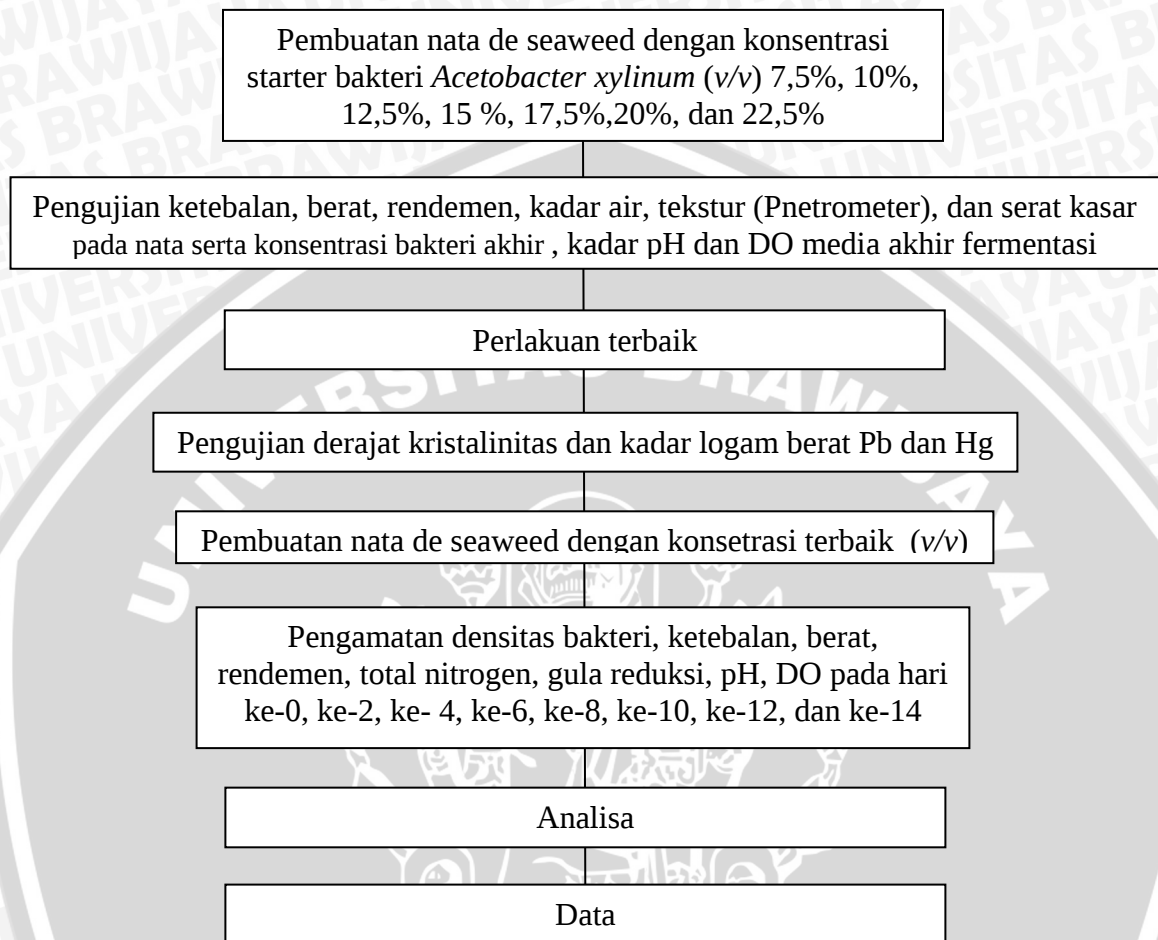
- Bixler, H.J., and K.D. Johndro. 2001. **Philippine Natural Grade or Semi Refined Carrageenan**. Handbook or Hydrocolloids. Edited by G.O. Philips and P.A. Williams. Woodhead Publishing Limited. Cambridge. England
- Brock, T.D, M.T. Madigan, J.M. Martinko, and Jack Parker. 1994. **Biology of Microorganisms**. Pretince-Hall International, Inc. New Jersey
- Brown, R. M., Jr. 1985. **Cellulose microfibril assembly and orientation: recent developments**. J. Cell Sci. Suppl. Vol 2 pp 13-32
- Brown, Jr. R.M. 1992. **Emerging Technologies and Future Prospects for Industrialization of Microbially Derived Cellulose**. in *ACS Conference Proceedings Series – Harnessing Biotechnology for the 21st Century*, Ed. by Michael R. Ladisch and Arindam Bose, American Chemical Society, pp. 76-79.
- Brown, Jr. R.M., Willison, J.H.M., and Richardson, C.L. 1976. **Cellulose Biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: Visualization of the Site of Synthesis and Direct Measurement of the In Vivo Process**, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 73, pp. 4565-4569.
- Budiyanto, M. A. K. 2002. **Mikrobiologi Terapan**. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Daniel, CH.V.M. 2002. **Effektifitas Umur dan Konsentrasi Starter *Acetobacter xylinum* dalam Pembentukan Pelikel Nata de Soya**. Skripsi Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- De Man ,J.N.1989. **Principle of Food Science**. Terjemahan. Kimia Makanan. Penerbit ITB. Bandung.
- Dwijoseputro. 1984. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. Jembatan. Jakarta.
- Fardiaz,. S. 1988. Analisis Mikrobiologi Pangan. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Gaspersz, V. 1994. **Metode Perancangan Percobaan. Untuk Ilmu-Ilmu Pertanian, Ilmu-Ilmu Teknik, dan Biologi**. Armico. Bandung
- Greenberg A.E., R.Rh. Trussell, and L.S. Clesceri. 1985. **Standart Methods. For the Examination of Water and Wastewater**. Editor M.A.H. Franson. American Public Healh Association. Washington.
- Gromet, Z., M. Schramm, and S. Hestrin . 1957. **Synthesis of Cellulose by *Acetobacter xylinum*, 4. Enzyme Systems Present in a Crude Extract of Glucose-Growth Cells**. Biochem. J. 67, 679.

- Guhardja. 1981. **Algae. Dalam: Botani Umum.** Departemen Botani. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hestrin, S. & Schramm, M. 1954. **Synthesis of Cellulose by *Acetobacter xylinu*. 2. Preparation of freeze-Dried Cells Capable of Polymerizing Glucose to Cellulose.** Biochem. J. 58, 345.
- Indriani H dan E. Suminarsih. 2003. **Budidaya, Pengolahan dan Pemasaran Rumput Laut.** Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ishihara, M., and S. Yamanaka. 2002. **Modified bacterial cellulose.** United States Patent RE38792. <http://www.freepatentsonline.com/RE38792.html>
- Istini, S dan A, Zatnika., 1991. **Optimasi Proses Semi Refined Carrageenan dari Rumput Laut *Euchema cottonii*.** Prosiding Temu Karya Ilmiah Teknologi Pasca Panen Rumput Laut. Sub Balai Penelitian Perikanan Laut. SLIPI. Jakarta.
- Judoamidjojo, R.M, A.A. Darwis dan E.G Sa'id, 1991. **Teknologi Fermentasi.** PAU-Bioteknologi IPB. Rajawali Press, Jakarta.
- Klug H.P., and Alexander, L.E. 1965 **X-Ray Diffraction Procedures. For Polycrystalline and Amorphous materials.** John Wiley and Sons, Inc. London
- Krystynowicz, A, W Czaja, A Wiktorowska-Jeziarska, M Golçalves-Miśkiewicz, M Turkiewicz and Bielecki. 2002. **Factors Affecting The Yield and Properties of Bacterial Cellulose.** Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 29, 189-195. Nature Publishing Group
- Muchtadi, D., 1989. **Evaluasi Nilai Gizi Pangan.** Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nilda, W.O. 2006. **Pengaruh Tingkat Pengenceran Medium Fermentasi yang berbeda terhadap kualitas Nata dari Limbah Air Perebusan Semi Refined Carrageenan (SRC) *Eucheuma cottonii*.** Skripsi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Nur, S., 2006. **Pengaruh Penambahan Amonium Sulfat (ZA) yang Berbeda Terhadap Kualitas Nata de Seaweed dari Limbah Air Perendaman Semi Refined Carrageenan (SRC) *Euchema Cottoni*.** Skripsi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Nurani, D., dan N. Laily. 2002. **Kajian pembuatan Nata dari Air Kedele Sisa Pembuatan Tahu-Tempe.** Seminar Nasional PATPI. Malang

- Okiyama, A., M. Motoki and S. Yamanaka, 1992. **Bacterial Cellulose II: Processing of Gelatinous Cellulose for Food Material**. Food Hydrocolloid Vol. 6, pp. 479-4871
- Pambayun, R., 2002. **Teknologi Pengolahan Nata de Coco**. Kanisius. Yogyakarta.
- Pradana, E. 2006. **Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Asam Asetat terhadap kualitas Nata dari Air Sisa Perebusan Karaginan Semi Murni *Eucheuma cottonii***. Skripsi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Rahadiyanto, F. 2001. **Pembuatan Nata de aqua Tinjauan dari Jenis Gula dan Konsentrasi Diamonium Phospat terhadap Kualitas Nata yang Dihasilkan**. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Rahman, A., 1992. **Pengantar Teknologi Fermentasi**. Arcan. Jakarta.
- Ristanti, P. D. 2002. **Pembuatan Nata Sari Buah Pepaya. Tinjauan dari pH awal dan Konsentrasi Sukrosa**. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Saragih, Y.P. 2004. **Membuat Nata De Coco**. Puspa Swara. Jakarta
- Saxena, I.M, T. Dandekar, R.M. Brown, Jr. 2003. **Mechanisms In Cellulose Biosynthesis**. University of Texas. Austin
- Siahainenia, D. 2001. **Pencemaran Laut, Dampak dan Penanggulangannya**. Makalah Falsafah Sains Program Pasca Sarjana. IPB. Bogor
- Soebagio, C., 1986. **Pencemaran Teluk Jakarta 1985**. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkotaan dan Lingkungan Daerah Khusus Ibukota Jakarta. Jakarta
- Suryasubrata, S., 1983. **Metodologi Penelitian**. Rajawali. Jakarta.
- Suryaningrum T. D., 1998. **Sifat-Sifat Mutu Komoditi Rumput Laut *Eucheuma cottoni* dan *Eucheuma spinosum***. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Susanto. 2002. **Apa Yang Terdapat Dalam Rumput Laut?**. www.oseanologi.lipi.go.id akses pada 09 Agustus 2006, 14:24:40
- Susrini, Ir.M.AppSc. 2005. **Indeks Efektifitas. Suatu Pemikiran Tentang Alternatif Untuk Memilih Perakuan Terbaik Pada Penelitian Pangan**. Universitas Brawijaya . Malang
- Sutarminingsih, S.Ch. 2004. **Peluang Usaha Nata de Coco**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Stevens, M.P., 2001. **Kimia Polimer**. Pradnya Paramita. Jakarta.

- Tantratian, S. , P. Tammarate, W. Krusong , P. Bhattarakosol and A. Phunsri. 2005. **Effect of Dissolved Oxygen on Cellulose Production by *Acetobacter* sp.** J. Sci. Res. Chula. Univ., Vol. 30, No. 2 (2005). Thailand
- Utami T., S. 2006. **Pengaruh Penambahan Sukrosa yang Berbeda Terhadap Kualitas Nata dari Limbah Air Perendaman Semi Refined Carrageenan (SRC) *Eucheuma cottonii*.** Skripsi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya. Malang
- Wardoyo, S. T .H., 1984. **Kriteria Kualitas Air untuk Pertanian dan Perikanan.** Institut Pertanian Bogor.Bogor.
- Webb, T.E., and J. Ross Colvin. 1962. **The Lysis of *Acetobacter xylinum*.** Can. J. Microbiol. Vol 8(6) pp 841-846. NRC Research Press. Canada
- Weinhouse, H., and M. Benziman. 1974. **Regulation of hexose phosphate Metabolism In *Acetobacter xylinum*.** Biochem. J. (1974) 138.pp 537-542. Britain
- Wibowo, D.,D. Sardjono, D. Haryono dan D. Wijono., 1988. **Prinsip-Prinsip Teknologi Fermentasi.** PAU Pangan dan Gizi. Proyek Peningkatan Pengembangan Perguruan Tinggi. UGM. Yogyakarta.
- Widia, I. W. 1984. **Mempelajari Pengaruh Skim Milk Kelapa, Jenis Gula dan Mineral dengan Berbagai Konsentrasi Pada Pembuatan Nata de Coco.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor.
- Wijaningsih, W. 1999. **Pengaruh Jenis Starter, Sumber Nitrogen, Dan Lama Fermentasi Erhadap Mutu Nata Kulit Semangka.** Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. IPB. Bogor
- Winarno, F. G. 1984. **Kimia Pangan dan Gizi.** Gramedia. Jakarta
- _____. 1996. **Teknologi Pengolahan Rumput Laut.** Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.
- Wong H.C, A.L. Fear, R.D. Calhoon, G.H. Eichinger, R. Mayer, D. Amikam, M. Benziman, D.Gelfand, J. Meade, A. Emerick, R. Bruner, A. Ben-Bassat, and R. Tal. 1990. **Genetic organization of the cellulose synthase operon in *Acetobacter xylinum*.** Proc. Natl. Acad. Sci. USA **87** pp8130-8134
- Yuwono, S.S dan T. Susanto, 1998. **Pengujian Fisik Pangan. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian.** Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Zatnika, A. 1993. **Prospek Industri dan Proses Produksi Karaginan.** Majalah Techner Edisi November. Jakarta.

Lampiran 1. Prosedur Pembuatan Nata de Seaweed (Modifikasi dari Pradana,2006)

Lampiran 2. Diagram Alir Prosedur Penelitian

Lampiran 3. Parameter Uji.

3.1 Ketebalan

Prinsip pengujian ketebalan adalah mengukur tinggi lapisan nata yang dihasilkan selama proses fermentasi. Prosedur pengukuran ketebalan adalah dengan meniriskan nata selama 10 menit. Kemudian ketebalan nata diukur pada beberapa sisi menggunakan jangka sorong. Setelah itu dihitung rata-rata hasil pengukuran ketebalannya.

3.2 Berat

Prinsip pengujian berat nata adalah menimbang massa nata yang dihasilkan selama proses fermentasi. Prosedur pengukuran berat nata adalah meniriskan nata selama 10 menit. Kemudian nata ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik. Dilihat sampai angka yang tertera konstan. Angka tersebut merupakan nilai dari berat nata.

3.3 DO

Pen DO meter disemprot aquades, bagian ujungnya dilap dengan tissue selanjutnya Pen DO meter dimasukkan dalam larutan sampel sampai batas titik pada DO meter pen, kemudian diukur DO-nya sampai konstan dan dicatat hasilnya.

3.4 Analisa pH (Yuwono dan Susanto, 1998)

Prosedur analisa pH adalah sebagai berikut: sampel yang telah dihomogenkan (medium fermentasi dan cairan sisa) diambil sekitar 30 ml dan ditempatkan dalam beaker glass ukuran 50 ml. Sebelum digunakan, alat dikalibrasi menggunakan buffer pH 7 dan 4, lalu dibersihkan dengan aquadest selanjutnya dilakukan pengukuran pH sampel. Setiap kali akan mengukur pH sampel yang lain, pH meter dibersihkan dengan aquadest.

3.5 Perhitungan Kepadatan *Acetobacter xylinum*

Perhitungan bakteri dengan menggunakan metode Hitung cawan. Prinsip metode hitung cawan adalah jika sel jasad renik yang masih hidup ditumbuhkan pada media agar, maka sel jasad renik tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dan dapat dihitung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop (Fardiaz, 1992).. Menurut Brown (1992), media yang dapat digunakan untuk menentukan jumlah koloni *Acetobacter xylinum* adalah media Hestrin dan Schramm. Sedangkan waktu yang diperlukan untuk inkubasi bakteri *Acetobacter xylinum* adalah selama 2-4 hari.

Komposisi media Hestrin dan Schramm adalah sebagai berikut:

- 2% (w/v) glukosa
- 0.5% (w/v) peptone
- 0.5% (w/v) yeast extract
- 0.27% dinatrium Phosphat anhydrous
- 0.15% (w/v) asam sitrat monohydrate

Menurut Fardiaz (1990), Prosedur kerja metode hitung cawan sebagai berikut :

Persiapan

- Pembuatan larutan NaCl fisiologis 0,9% (9000 ppm) dengan cara melarutkan 0,9 gram NaCl ke dalam 100 ml aquadest. Larutan NaCl Fisiologis berfungsi sebagai larutan isotonis bakteri, dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi sebanyak 9 ml.
- Pembuatan media Hestrin dan Schramm sebanyak jumlah cawan petri yang akan digunakan untuk analisa. Setiap cawan petri berisi ± 15 ml.
- Pencucian semua peralatan analisa dan membilasnya sampai bersih.
- Peralatan analisa dibungkus dengan kertas koran.

- Peralatan yang sudah dibungkus dengan kertas koran disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Pengenceran

- Larutan sampel diambil sebanyak 1 ml.
- Sampel dimasukkan ke tabung reaksi yang sudah diisi 9 ml larutan Na fis sebanyak 0,9 % dan dihomogenkan (dihitung sebagai pengenceran 10^{-1}).
- ambil larutan dari pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larutan 9 ml Na fis 0,9% (dicatat sebagai pengenceran 10^{-2}).
- dilakukan dengan cara yang sama sampai pengenceran 10^{-8}

Penanaman Bakteri

- dilakukan penanaman bakteri dengan menggunakan metode tuang yaitu dengan mengambil 1 ml dari hasil pengenceran 10^{-4} sampai 10^{-8} dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan dalam cawan petri secara duplo.
- diinkubasi pada suhu $\pm 30^{\circ}\text{C}$ selama 48 - 72 jam.

Penghitungan Bakteri

Setelah diinkubasi selama 48 - 72 jam dihitung jumlah koloninya dengan rumus perhitungan :

$$\text{Jumlah bakteri} = \text{jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengencer}}$$

3.6 Analisa Gula Reduksi Metode Spektrofotometri (AOAC, 1990)

Penyiapan Kurva Standart

Buat larutan glukosa standart (10 mg glukosa anhidrat/100 ml). Dari larutan tersebut dilakukan 6 kali pengenceran sehingga diperoleh larutan glukosa dengan konsentrasi: 2, 4, 6, 8, 10 mg/100 ml. Disiapkan 7 tabung reaksi yang bersih, masing-masing diisi dengan 1 ml larutan glukosa standar tersebut di atas. Satu tabung diisi 1 ml aquadest sebagai blangko. Ditambahkan kedalam masing-masing tabung 1 ml reagent Nelson dan panaskan semua tabung pada penangas air mendidih selama 20 menit. Diambil semua tabung dan segera didinginkan bersama-sama dalam gelas piala yang berisi air dingin sehingga suhu tabung mencapai 25°C. Setelah itu ditambahkan 1 ml reagen Arsenomolybdat, gojog sampai semua endapan Cu_2O yang ada larut kembali. Setelah semua endapan Cu_2O larut sempurna, tambahkan 7 ml aquades, gojoglah sampai homogen. Arahkan “*optical density*” (OD) masing-masing larutan tersebut pada panjang gelombang 540 nm. Buatlah kurva standar yang menunjukkan hubungan antara konsentrasi glukosa dan OD.

Penentuan Gula Reduksi

Disiapkan larutan contoh yang mempunyai kadar gula reduksi sekitar 2-8 mg/100 ml. Perlu diperhatikan bahwa larutan contoh ini harus jernih, karena itu bila dijumpai contoh yang keruh atau berwarna maka perlu dilakukan perjernihan terlebih dahulu dengan menggunakan Pb-asetat atau bubuk Aluminium hidroksida. Kemudian dipipet larutan contoh yang jernih tersebut ke dalam tabung reaksi yang bersih. Ditambahkan 1 ml reagen Nelson dan selanjutnya diperlakukan seperti pada penyiapan kurva standar.

Jumlah gula reduksi dapat ditentukan berdasarkan OD larutan contoh dan kurva standar.

$$\text{Kadar gula reduksi} = \frac{\text{Larutan contoh (mg)} \times \text{Pengenceran}}{\text{B.sp (g)} \times 1000} \times 100\%$$

3.7 Penentuan Kadar N Total Metode Kjeldhal (Greenberg *et.al.*, 1985)

Prinsip analisis kadar protein adalah mencernakan sampel dengan asam pekat, sehingga N dalam protein akan terurai dan membentuk garam. Kemudian ditambahkan alkali kuat akan membentuk NH_3 yang didestilasi dan ditampung dalam H_3BO_3 selanjutnya dititrasi dengan asam standart.. adapun prosedur analisa kadar N adalah masukkan 50 ml sampel dalam 800 ml tabung Kjeldal. Tambahkan 10 ml H_2SO_4 pekat, 6,7 g K_2SO_4 dan 1,25 ml larutan H_2SO_4 . Kemudian didestruksi sampai warna cairan jernih atau coklat jernih. Selanjutnya didinginkan dan ditambah 300 ml aquades. Tambahkan 50 ml reagen hidroxyda-thiosulfat. Sampel didestilasi dan destilat pada Erlenmeyer yang berisi 50 ml asam borak dan 2 tetes indikator campuran MR dan MB. Destilasi dilakukan sampai destilat yang tertampung sebanyak 200 ml. Destilat dititrasi dengan H_2SO_4 0,002 N sampai timbul warna merah muda. Selanjutnya dibuat blanko seperti tahapan diatas dengan cara mengganti sampel dengan aquades.

$$\text{mg NH}_3 - \text{N} / \text{L} = \frac{(\text{mL H}_2\text{SO}_4 \text{ sampel} - \text{mL H}_2\text{SO}_4 \text{ Blanko}) \times 2 \times 14,007}{\text{mL Sampel}}$$

3.8 Analisa Rendemen

Prinsip analisa rendemen adalah menentukan perbandingan dalam persen antara berat nata (g) dengan berat media yang digunakan untuk pembuatan nata (g). Prosedur

analisa rendemen adalah sebagai berikut: menimbang berat akhir produk yang diperoleh.

Rendemen diperoleh dengan rumus :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat nata (gram)}}{\text{Berat medium awal (gram)}} \times 100\%$$

3.9 Analisa Tekstur (Yuwono dan Susanto, 1998)

Prosedur analisa tekstur adalah sebagai berikut: menimbang berat beban (beban dengan pemegang). Bahan yang akan diukur diletakkan tepat di bawah jarum penusuk penetrometer. Menentukan waktu pengujian yaitu waktu yang diperlukan untuk penekanan terhadap bahan. Melepaskan bahan lalu baca skala penunjuk setelah alat berhenti. Pengujian perlu diulang pada berbagai sisi sampel. Buat rata-rata hasil pembacaan. Rumus perhitungan penetrasi (mm/g detik):

$$\text{Penetrasi} = \frac{(\text{Rata - rata hasil pengukuran} \times 1/10) \text{ (mm)}}{\text{Bobot beban (g)} \times \text{waktu pengujian (10 detik)}}$$

3.10 Analisa Kadar Air (AOAC, 1990)

Prinsip penentuan kadar air adalah menguapkan air dalam bahan dengan jalan pemanasan, kemudian menimbang bahan sampai berat konstan yang berarti semua air bebas sudah diuapkan. Prosedur penentuan kadar air adalah sebagai berikut: sampel ditimbang sebanyak 2-5 gram dimasukkan pada botol timbang yang telah diketahui beratnya. Botol timbang tersebut dimasukkan dalam oven dengan suhu 100°C–120°C selama 3-4 jam atau hingga diperoleh berat konstan. Sampel tersebut kemudian dikeluarkan dari oven dan dimasukkan kedalam desikator dan segera ditimbang setelah mencapai suhu kamar. Memasukkan kembali bahan tersebut ke dalam oven sampai

tercatat berat yang konstan (selisih 2 kali penimbangan $<0,2$ mg). Kehilangan berat tersebut dihitung sebagai prosentase kandungan air dan dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{Berat awal} - \text{Berat akhir}}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

3.11 Analisa Serat Kasar (Muchtadi, 1989)

Prosedur analisa serat kasar yaitu: menimbang 2 gram sampel, dimasukkan kedalam erlenmeyer dan ditambahkan 200 ml larutan H_2SO_4 (0,255 N) mendidih, ditutup dengan pendingin balik kemudian dididihkan selama 30 menit. Suspensi kemudian disaring dengan kertas saring, residu pada kertas saring dicuci sampai tidak bersifat asam lagi. Residu dalam kertas saring dimasukkan lagi kedalam erlenmeyer dengan bantuan spatula, dicuci dengan NaOH (0,313 N) mendidih. Selanjutnya disaring dengan kertas saring yang telah diketahui berat konstannya sambil dicuci dengan K_2SO_4 10%, residu dicuci dengan aquadest mendidih dan 15 ml alkohol 95%. Kemudian kertas saring dikeringkan di oven. Berat residu sama dengan berat serat kasar.

3.12 Pengukuran Derajat Kristalinitas

Prosedur pengukuran derajat kristalinitas dengan menggunakan difraktometer sinar-X JEOL JDX-3530 adalah sebagai berikut : sampel dipasang pada alat difraktometer sinar-X dan alat dinyalakan yang ditandai dengan menyalnya lampu warna kuning. Analisa dianggap selesai jika warna kuning telah padam. Dari hasil analisa kemudian dihitung derajat kristalinitasnya berdasarkan perbandingan antara luas fase kristalin dengan total fase amorf dan fase kristalin.

3.13 Pengujian Timbal (Pb)

Prosedur pengujian kandungan timbal pada bahan pangan adalah dengan merarutkan contoh 25 ml dan dimasukkan ke dalam labu pemisah, kemudian sambil dikocok ditambahkan larutan dithizon (2,5 mg/100 ml chloroform) sampai warna ungu menjadi hijau dan setiap penambahan adalah 1ml. Kemudian ditambahkan lagi larutan dithizon sehingga total penambahan adalah 10 ml. selanjutnya dipisahkan dan lapisan air dibuang. Kedalam larutan chloroform ditambahkan 20 ml larutan pencuci (larutan yang mengandung 10 ml larutan 5% KCN dan 5 ml ammonium hidroksida pekat per 100 ml) dikocok rata kemudian larutan pencuci dibuang. Dibandingkan adsorbansi lapisan chloroform contoh dengan standart yang dibuat dengan cara yang sama pada panjang gelombang 520 μm .

3.14 Pengujian Merkuri (Hg)

Homogenat contoh yaitu campuran dari 10 g contoh + 50 ml H_2O , dipindahkan kedalam labu takar 100 ml dan tepatkan volumenya dengan H_2O . Kemudian disaring homogenat dan ambil filtratnya sebanyak 1ml filtrat contoh kedalam labu takar dan tepatkan dengan H_2O . Apabila perkiraan kandungan merkuri tinggi maka perlu diencerkan lagi. Pada saat ini terjadi tahap pembentukan senyawa berabsorpsi. Setelah itu pindahkan larutan contoh kedalam botol BOD dan tambahkan :

+ 5 ml H_2SO_4 0,5 N

+ 2,5 ml HNO_3

+ 15 ml KMNO_4 15 % kemudian diamkan selama 15 menit

+ 8 ml Potassium persulfat 5 %

Kemudian dilakukan pembacaan adsorbansi pada Mercury Analyzer pada 5x atau 1x

$$\text{ppm Merkuri} = \frac{(Ac - Ab) - a \times fp}{b \times \text{Berat Contoh} \times 1000}$$

Keterangan :

Ac : Adsorban contoh

Ab : Adsorban blanko

a : Intersip dari persamaan regresi standart

b : Slope dari persamaan regresi standart

fp : Faktor pengenceran

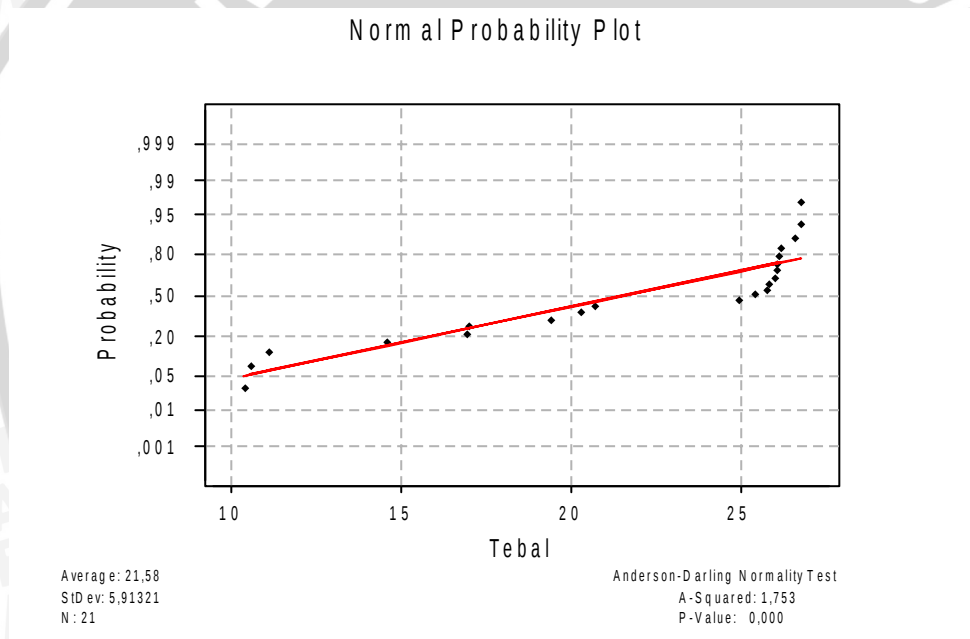


Lampiran 4. Data dan Perhitungan Ketebalan

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	11,07	10,35	10,52	31,94	10,65
10	16,93	16,96	14,57	48,46	16,15
12,5	20,26	20,71	19,41	60,38	20,13
15	26,08	25,84	24,92	76,84	25,61
17,5	26,11	26,77	25,41	78,29	26,10
20	25,97	26,75	26,19	78,91	26,30
22,5	26,06	26,56	25,74	78,36	26,12

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: Ketebalan



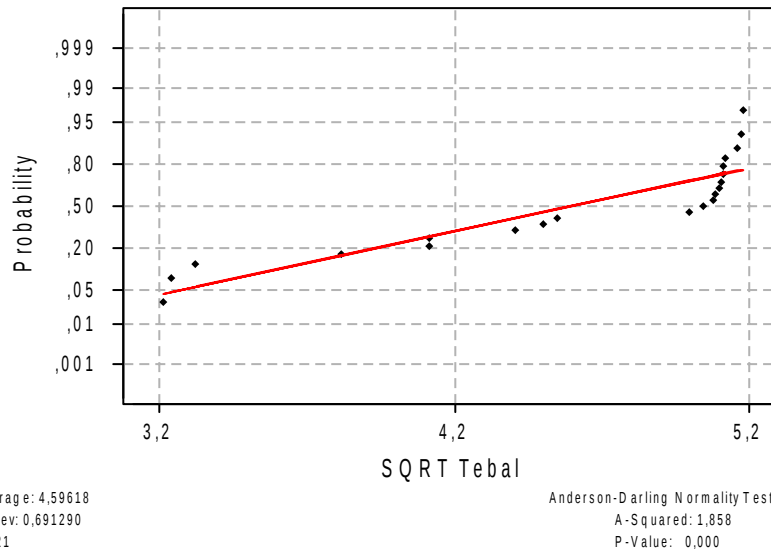
Berdasarkan grafik diatas, nilai $p = 0,000$ (data tidak menyebar normal karena $p < 0,05$).

Selanjutnya data ditransformasi dengan square root, sehingga:

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	3,33	3,22	3,24	9,79	3,26
10	4,11	4,12	3,82	12,05	4,02
12,5	4,50	4,55	4,41	13,46	4,49
15	5,11	5,08	4,99	15,18	5,06
17,5	5,11	5,17	5,04	15,32	5,11
20	5,10	5,17	5,12	15,39	5,13
22,5	5,10	5,15	5,07	15,33	5,11

Normal Prob Plot: SQRT Ketebalan

Normal Probability Plot



$p = 0,000$. Data tidak normal ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji kruskal wallis.

Kruskal-Wallis Test: Rank versus Starter

Starter	N	Median	Ave Rank	Z
7,5	3	2,000	2,0	-2,71
10,0	3	5,000	5,0	-1,81
12,5	3	8,000	8,0	-0,90
15,0	3	13,000	13,0	0,60
17,5	3	17,000	16,3	1,61
20,0	3	18,000	17,3	1,91
22,5	3	15,000	15,3	1,31
Overall	21		11,0	

$H = 16,94$ $DF = 6$ $P = 0,010$

Karena $p < 0,05$ maka tolak H_0 , berarti terdapat perbedaan pengaruh konsentrasi starter terhadap ketebalan nata. Selanjutnya dilakukan uji lanjut ketebalan.

$$|R_i - R_j| \leq Z \left[1 - \left[\frac{\alpha}{k(k-1)} \right] \right] \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{r_i} + \frac{1}{r_j} \right)}$$

$$k = \frac{\alpha}{k(k-1)} = \frac{0.05}{7(7-1)} = 0.00119$$

$$Z > 0.00119 = 3,04982$$

$$|R_i - R_j| \leq 3,04982 \sqrt{\frac{21(21+1)}{12} \left(\frac{1}{7} + \frac{1}{3} \right)}$$

$$|R_i - R_j| \leq 13,05856$$

Starter (%)	Ri	Starter (%) dan nilai tengahnya							Notasi
		7,5	10	12,5	15	22,5	17,5	20	
		2,0	5,0	8,0	13,0	15,3	16,3	17,3	
7,5	2,0	-	3	6	11	12,3	14,3*	15,3*	a
10	5,0		-	3	8	10,3	11,3	12,3	ab
12,5	8,0			-	5	7,3	8,3	9,3	ab
15	13,0				-	2,3	3,3	4,3	ab
22,5	15,3					-	1	2	ab
17,5	16,3						-	1	b
20	17,3							-	b

Polynomial Regression Analysis: Tebal versus Starter

The regression equation is

$$\text{Tebal} = -15,8212 + 4,31214 \text{ Starter} - 0,109124 \text{ Starter}^2$$

S = 0,942092

R-Sq = 97,7 %

R-Sq(adj) = 97,5 %

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	683,345	341,672	384,967	0,000
Error	18	15,976	0,888		
Total	20	699,320			

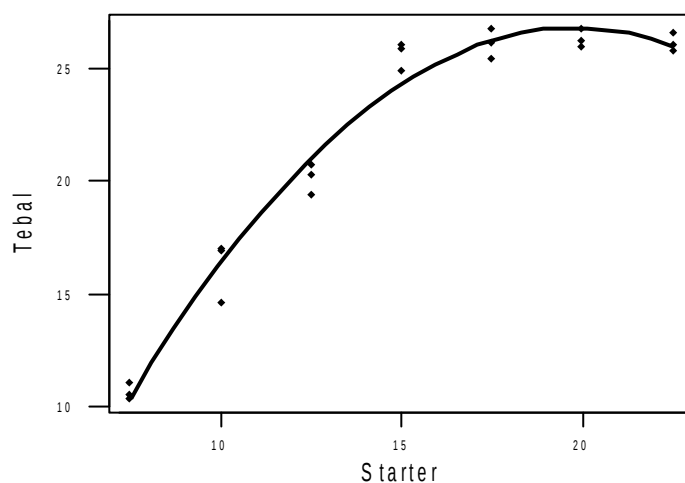
Source	DF	Seq SS	F	P
Linear	1	566,125	80,757	0,000
Quadratic	1	117,219	132,073	0,000

Fitted Line Plot: Tebal versus Starter

Regression Plot

$$\text{Tebal} = -15,8212 + 4,31214 \text{ Starter} - 0,109124 \text{ Starter}^2$$

S = 0,942092 R-Sq = 97,7 % R-Sq(adj) = 97,5 %



Penentuan Nilai Optimal Penggunaan Starter Berdasarkan Turunan Pertama Fungsi Kuadrat Regresi Ketebalan

$$\text{Tebal} = -15,8212 + 4,31214 \text{ Starter} - 0,109124 \text{ Starter}^2$$

$$y = -15,8212 + 4,31214 x - 0,109124 x^2$$

$$y' = 4,31214 - 0,21825x$$

$$\text{Nilai optimal jika } y' = 0 \rightarrow 0 = 4,31214 - 0,21825x$$

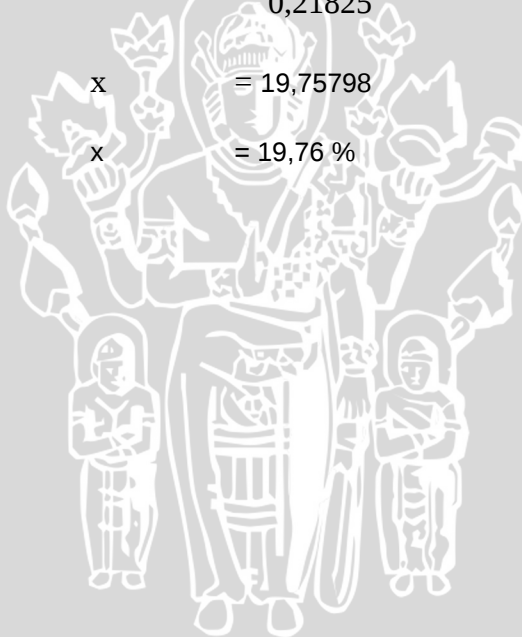
$$0,21825x = 4,31214$$

$$x = \frac{4,31214}{0,21825}$$

$$x = 19,75798$$

$$x = 19,76 \%$$

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

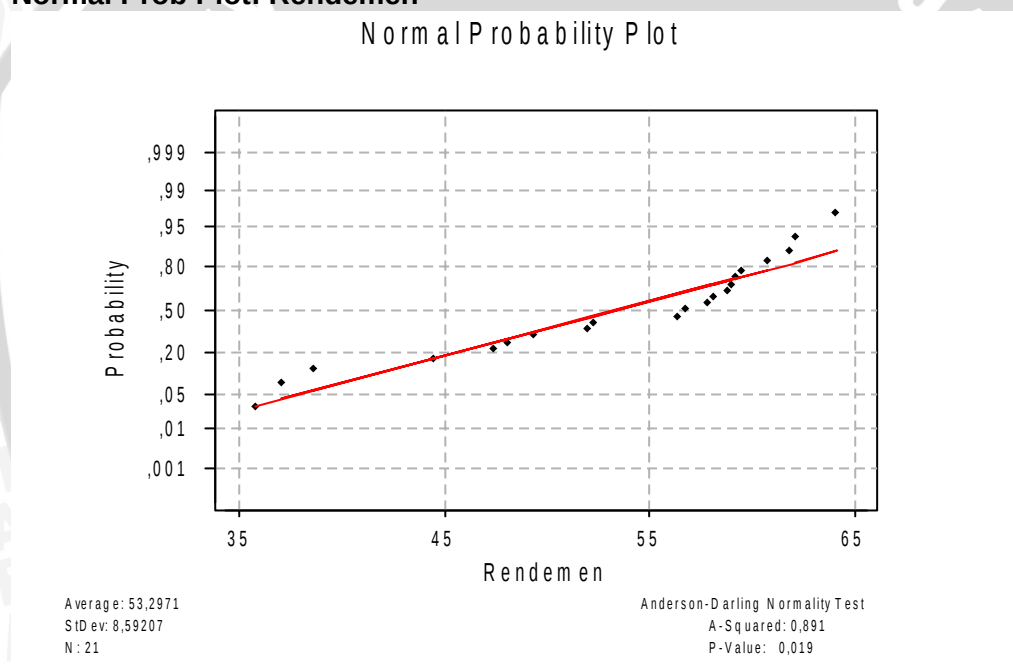


Lampiran 5. Data dan Perhitungan Rendemen

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	35,75	38,53	37,02	111,30	37,10
10	47,37	48,09	44,41	139,87	46,62
12,5	52,29	52,00	49,30	153,59	51,20
15	57,87	59,01	56,77	173,65	57,88
17,5	58,14	59,21	61,84	179,19	59,73
20	58,82	59,51	64,13	182,46	60,82
22,5	56,34	60,72	62,12	179,18	59,73

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: Rendemen



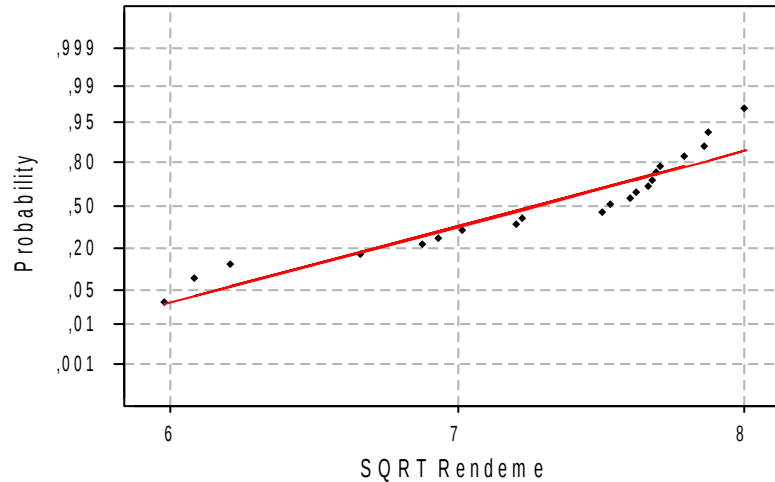
Berdasarkan grafik diatas, nilai $p = 0,019$ (data tidak menyebar normal karena $p < 0,05$).

Selanjutnya data ditransformasi dengan square root, sehingga:

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	5,98	6,21	6,08	18,27	6,09
10	6,88	6,93	6,66	20,48	6,83
12,5	7,23	7,21	7,02	21,46	7,15
15	7,61	7,68	7,53	22,82	7,61
17,5	7,62	7,69	7,86	23,18	7,73
20	7,67	7,71	8,01	23,39	7,80
22,5	7,51	7,79	7,88	23,18	7,73

Normal Prob Plot: SQRT Rendemen

Normal Probability Plot



Average: 7,27594
 Std Dev: 0,612937
 N: 21

Anderson-Darling Normality Test
 A-Squared: 1,015
 P-Value: 0,009

$p = 0,009$. Data tidak normal ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji kruskal wallis.

Kruskal-Wallis Test: Rank versus Starter

Starter	N	Median	Ave Rank	Z
7,5	3	2,000	2,0	-2,71
10,0	3	5,000	5,0	-1,81
12,5	3	8,000	8,0	-0,90
15,0	3	12,000	12,7	0,50
17,5	3	16,000	16,0	1,51
20,0	3	17,000	17,3	1,91
22,5	3	18,000	16,0	1,51
Overall	21		11,0	

$H = 17,06$ $DF = 6$ $P = 0,009$

Karena $p < 0,05$ maka tolak H_0 , berarti terdapat perbedaan pengaruh konsentrasi starter terhadap Rendemen nata. Selanjutnya diteruskan dengan uji lanjut Rendemen.

$$|R_i - R_j| \leq Z \left[1 - \left[\frac{\alpha}{k(k-1)} \right] \right] \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{r_i} + \frac{1}{r_j} \right)}$$

$$k = \frac{\alpha}{k(k-1)} = \frac{0.05}{7(7-1)} = 0.00119$$

$$Z > 0.00119 = 3,04982$$

$$|R_i - R_j| \leq 3,04982 \sqrt{\frac{21(21+1)}{12} \left(\frac{1}{7} + \frac{1}{3} \right)}$$

$$|R_i - R_j| \leq 13,05856$$

Starter (%)	Ri	Starter (%) dan nilai tengahnya							Notasi
		7,5	10	12,5	15	17,5	22,5	20	
		2	5	8	12,7	16	16	17,3	
7,5	2	-	3	6	10,7	14*	14*	15,3*	a
10	5		-	3	7,7	11	11	12,3	ab
12,5	8			-	4,7	8	8	9,3	ab
15	12,7				-	3,3	3,3	4,6	ab
17,5	16					-	0	1,3	b
22,5	16						-	1,3	b
20	17,3							-	b

Polynomial Regression Analysis: Rendemen versus Starter

The regression equation is

$$\text{Rendemen} = 0,293810 + 6,07895 \text{ Starter} - 0,152724 \text{ Starter}^2$$

S = 1,97159

R-Sq = 95,3 %

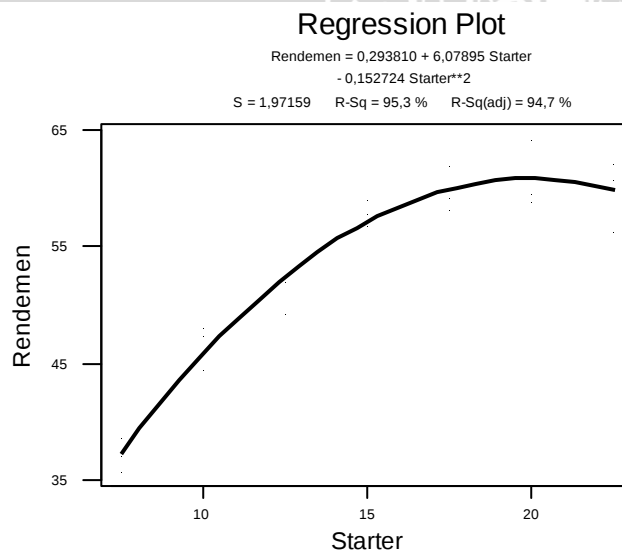
R-Sq(adj) = 94,7 %

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	1406,51	703,253	180,917	0,000
Error	18	69,97	3,887		
Total	20	1476,47			

Source	DF	Seq SS	F	P
Linear	1	1176,90	74,6443	0,000
Quadratic	1	229,60	59,0667	0,000

Fitted Line Plot: Rendemen versus Starter



Penentuan Nilai Optimal Penggunaan Starter Berdasarkan Turunan Pertama Fungsi Kuadrat Regresi Rendemen

$$\text{Rendemen} = 0,293810 + 6,07895 \text{ Starter} - 0,152724 \text{ Starter}^2$$

$$y = 0,293810 + 6,07895 x - 0,152724 x^2$$

$$y' = 6,07895 - 0,305448x$$

$$\text{Nilai optimal jika } y' = 0 \rightarrow 0 = 6,07895 - 0,305448x$$

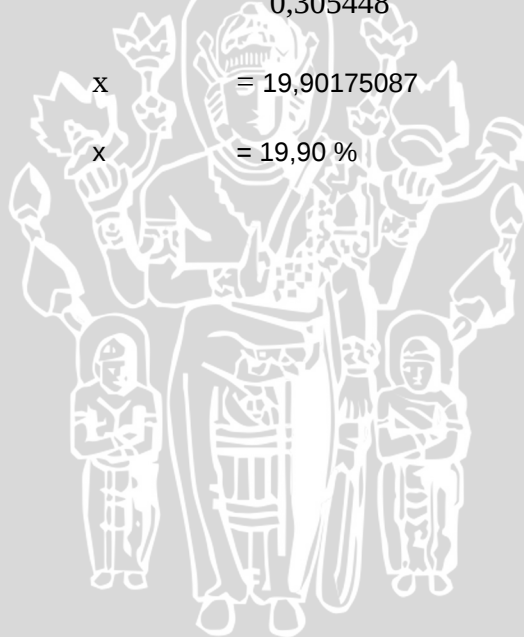
$$0,305448x = 6,07895$$

$$x = \frac{6,07895}{0,305448}$$

$$x = 19,90175087$$

$$x = 19,90 \%$$

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

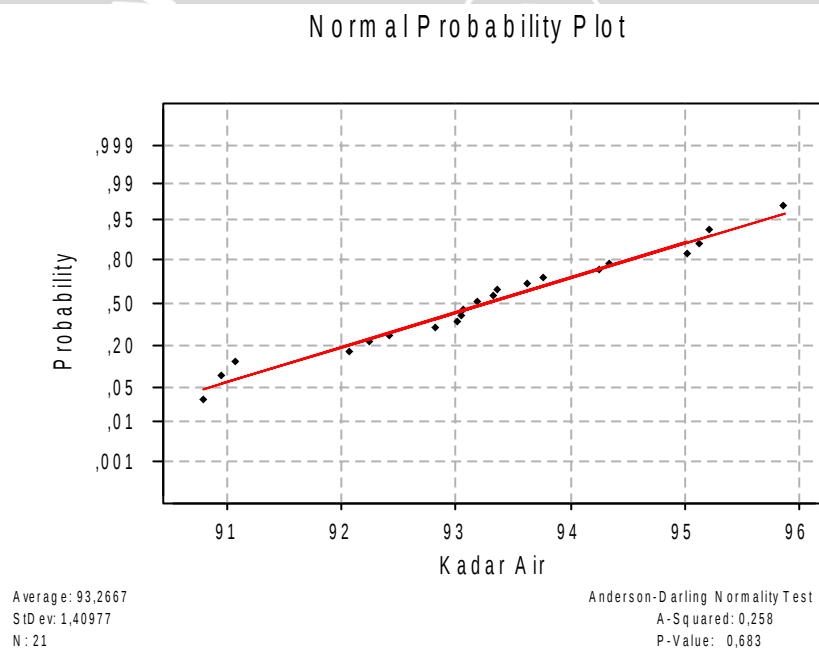


Lampiran 6. Data dan Perhitungan Kadar air

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	94,35	95,23	95,03	284,61	94,87
10	92,42	93,63	93,18	279,23	93,08
12,5	92,06	93,05	90,79	275,90	91,97
15	90,95	93,36	91,06	275,37	91,79
17,5	92,24	93,02	93,06	278,32	92,77
20	93,33	92,82	95,88	282,03	94,01
22,5	94,25	93,76	95,13	283,14	94,38

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: Kadar air



Berdasarkan grafik diatas nilai $p = 0,683$ (data menyebar normal karena $p > 0,05$).

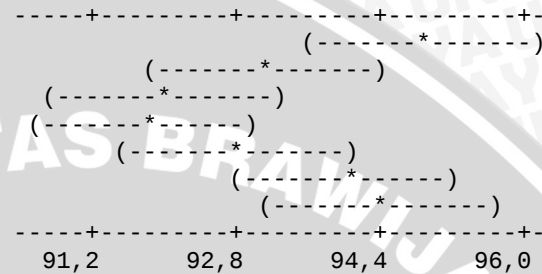
Kemudian dilanjutkan dengan ANOVA, sehingga:

One-way ANOVA: Kadar Air versus Starter

Source	DF	SS	MS	F	P
Starter	6	25,54	4,26	4,19	0,013
Error	14	14,21	1,02		
Total	20	39,75			

Level	N	Mean	StDev
7,5	3	94,870	0,461
10,0	3	93,077	0,612
12,5	3	91,967	1,133
15,0	3	91,790	1,361
17,5	3	92,773	0,462
20,0	3	94,010	1,639
22,5	3	94,380	0,694

Individual 95% CIs For Mean
Based on Pooled StDev



Polynomial Regression Analysis: Kadar Air versus Starter

The regression equation is

$$\text{Kadar Air} = 102,483 - 1,40395 \text{ Starter} + 0,0473714 \text{ Starter}^2$$

S = 0,986121

R-Sq = 56,0 %

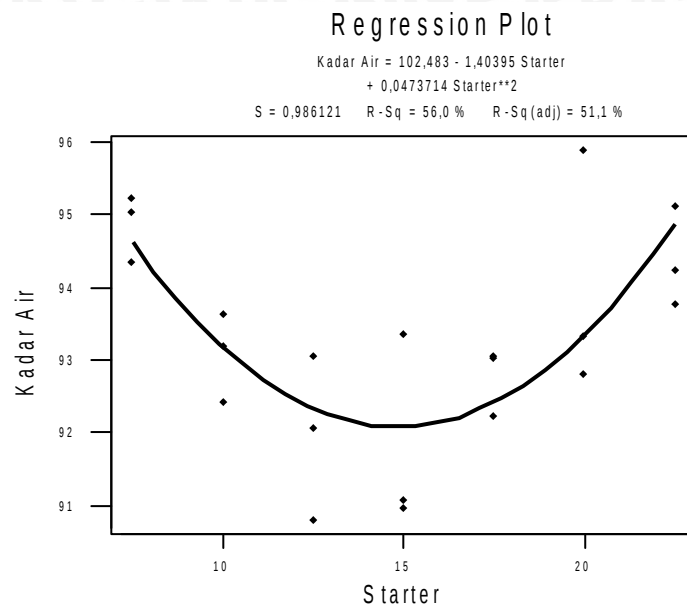
R-Sq(adj) = 51,1 %

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	22,2450	11,1225	11,4378	0,001
Error	18	17,5038	0,9724		
Total	20	39,7489			

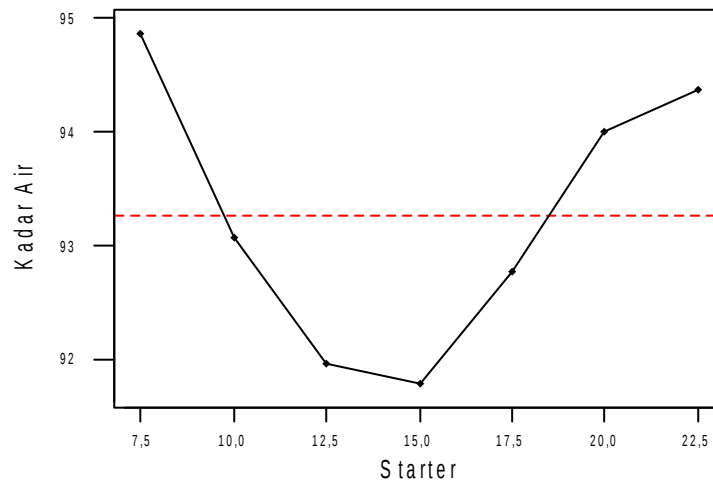
Source	DF	Seq SS	F	P
Linear	1	0,1551	0,0744	0,788
Quadratic	1	22,0899	22,7161	0,000

Polynomial Regression Analysis: SQRT Tekstur versus Starter



Main Effects Plot for Kadar Air

Main Effects Plot - Data Means for Kadar Air



Penentuan Nilai Optimal Penggunaan Starter Berdasarkan Turunan Pertama Fungsi Kuadrat Regresi Kadar Air

$$\text{Kadar Air} = 102,483 - 1,40395 \text{ Starter} + 0,0473714 \text{ Starter}^2$$

$$y = 102,483 - 1,40395 x + 0,0473714 x^2$$

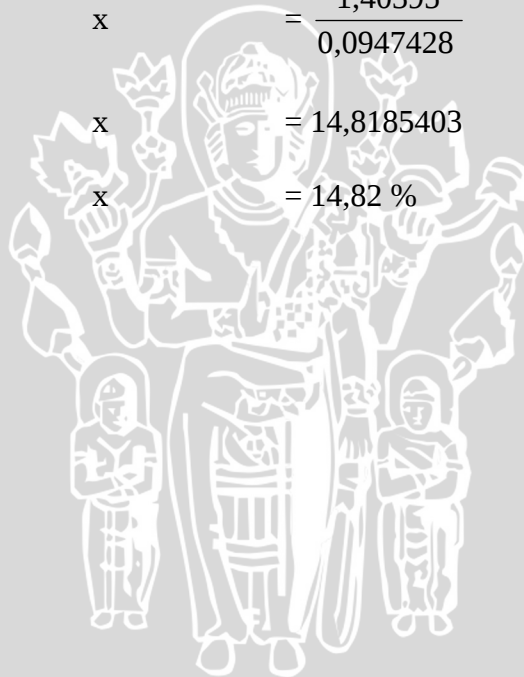
$$y' = -1,40395 + 0,0947428 x$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai optimal jika } y' &= 0 \rightarrow 0 = -1,40395 + 0,0947428 x^2 \\ 0,0947428 x &= 1,40395 \end{aligned}$$

$$x = \frac{1,40395}{0,0947428}$$

$$x = 14,8185403$$

$$x = 14,82 \%$$

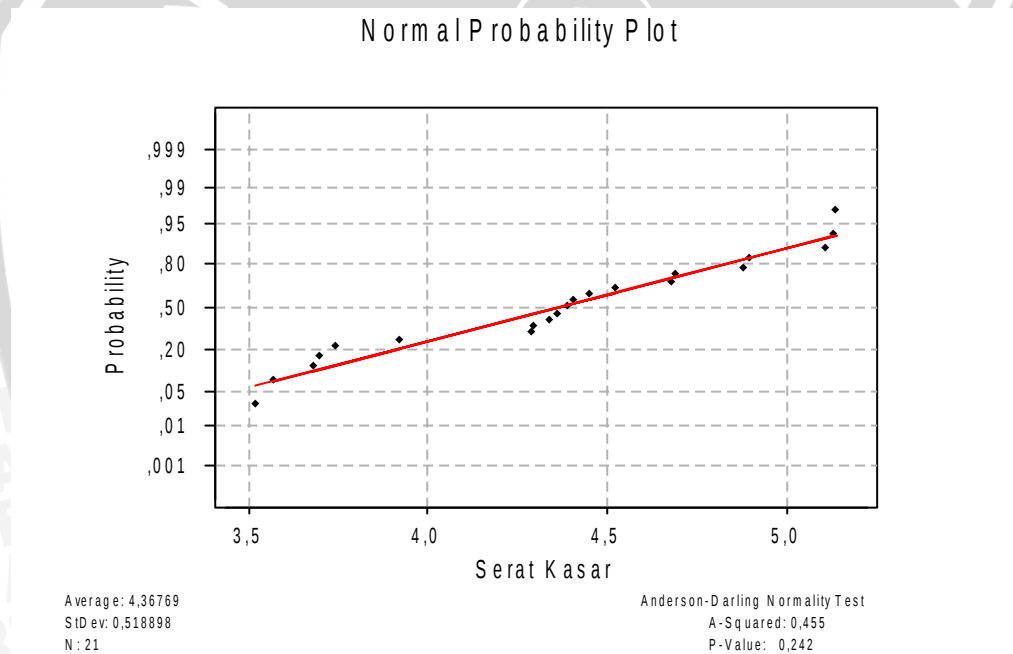


Lampiran 7. Data dan Perhitungan Serat kasar

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	3,52	3,74	3,57	10,83	3,61
10	4,69	4,29	4,45	13,43	4,48
12,5	4,90	4,39	5,11	14,40	4,80
15	5,14	4,36	5,13	14,63	4,88
17,5	4,68	4,41	4,88	13,97	4,66
20	4,34	4,52	3,68	12,54	4,18
22,5	3,70	4,29	3,92	11,91	3,97

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: Serat kasar



Berdasarkan grafik diatas nilai $p = 0,242$ (data menyebar normal karena $p > 0,05$).

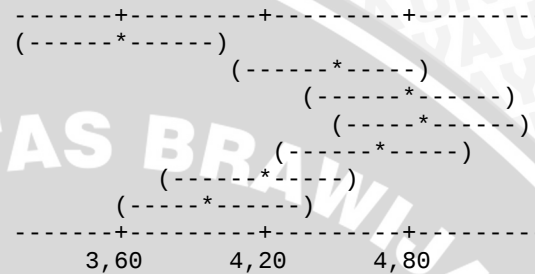
Kemudian dilanjutkan dengan ANOVA, sehingga:

One-way ANOVA: Serat Kasar versus Starter

Source	DF	SS	MS	F	P
Starter	6	3,916	0,653	6,22	0,002
Error	14	1,469	0,105		
Total	20	5,385			

Level	N	Mean	StDev
7,5	3	3,6111	0,1171
10,0	3	4,4772	0,2006
12,5	3	4,7993	0,3714
15,0	3	4,8777	0,4457
17,5	3	4,6557	0,2374
20,0	3	4,1815	0,4439
22,5	3	3,9715	0,3006

Individual 95% CIs For Mean
Based on Pooled StDev



Pooled StDev = 0,3239

Polynomial Regression Analysis: Serat Kasar versus Starter

The regression equation is

$$\text{Serat Kasar} = 0,498150 + 0,574248 \text{ Starter} - 0,0189767 \text{ Starter}^2$$

S = 0,318622

R-Sq = 66,1 %

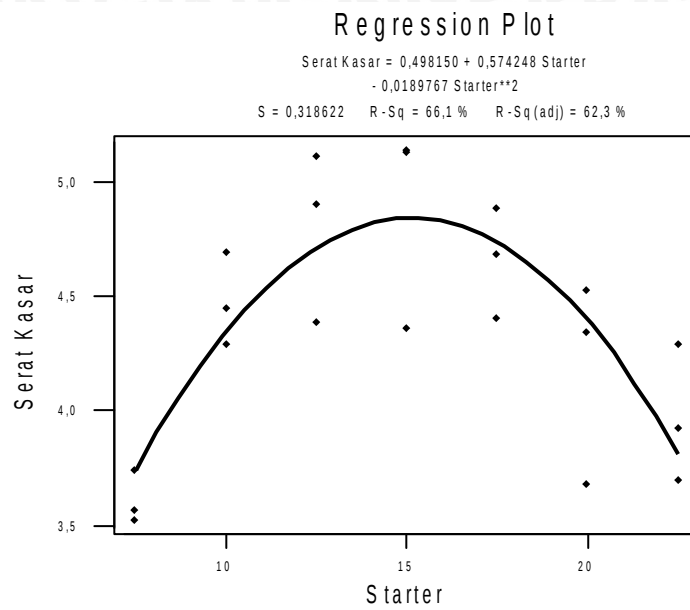
R-Sq(adj) = 62,3 %

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	2	3,55774	1,77887	17,5224	0,000
Error	18	1,82736	0,10152		
Total	20	5,38510			

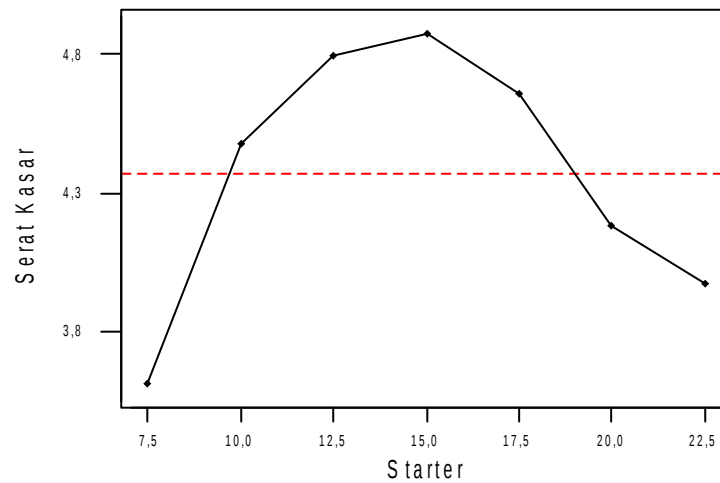
Source	DF	Seq SS	F	P
Linear	1	0,01285	0,0454	0,833
Quadratic	1	3,54489	34,9183	0,000

Fitted Line Plot: Serat Kasar versus Starter



Main Effects Plot for Serat Kasar

Main Effects Plot - Data Means for Serat Kasar



Penentuan Nilai Optimal Penggunaan Starter Berdasarkan Turunan Pertama Fungsi Kuadrat Regresi Serat Kasar

$$\text{Serat Kasar} = 0,498150 + 0,574248 \text{ Starter} - 0,0189767 \text{ Starter}^2$$

$$y = 0,498150 + 0,574248 x - 0,0189767 x^2$$

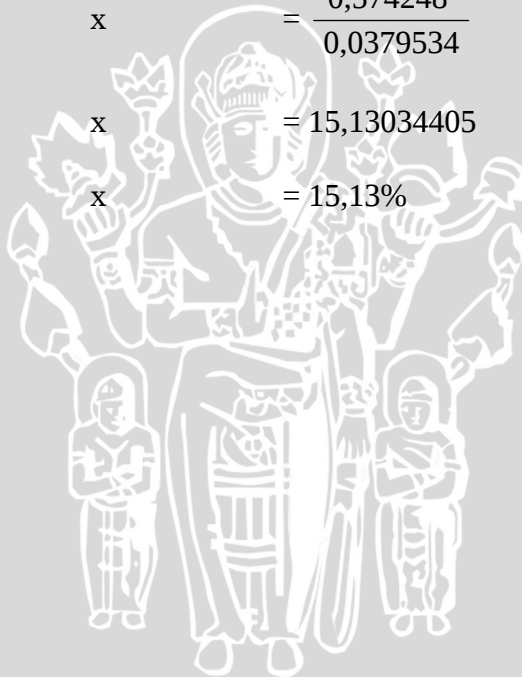
$$y' = 0,574248 - 0,0379534 x$$

$$\begin{aligned} \text{Nilai optimal jika } y' &= 0 \rightarrow 0 = 0,574248 - 0,0379534 x \\ 0,0379534 x &= 0,574248 \end{aligned}$$

$$x = \frac{0,574248}{0,0379534}$$

$$x = 15,13034405$$

$$x = 15,13\%$$

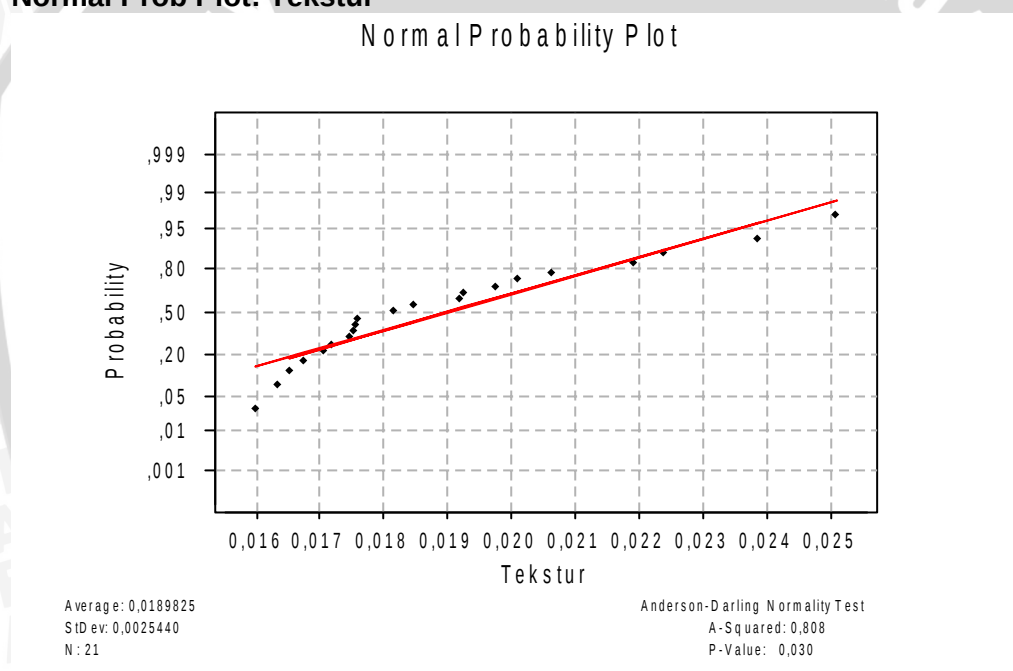


Lampiran 8. Data dan Perhitungan Tekstur

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	0,0224	0,0251	0,0239	0,0713	0,0238
10	0,0206	0,0201	0,0219	0,0626	0,0209
12,5	0,0193	0,0181	0,0197	0,0571	0,0190
15	0,0172	0,0163	0,0176	0,0510	0,0170
17,5	0,0165	0,0160	0,0176	0,0501	0,0167
20	0,0171	0,0167	0,0175	0,0513	0,0171
22,5	0,0192	0,0175	0,0185	0,0551	0,0184

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: Tekstur



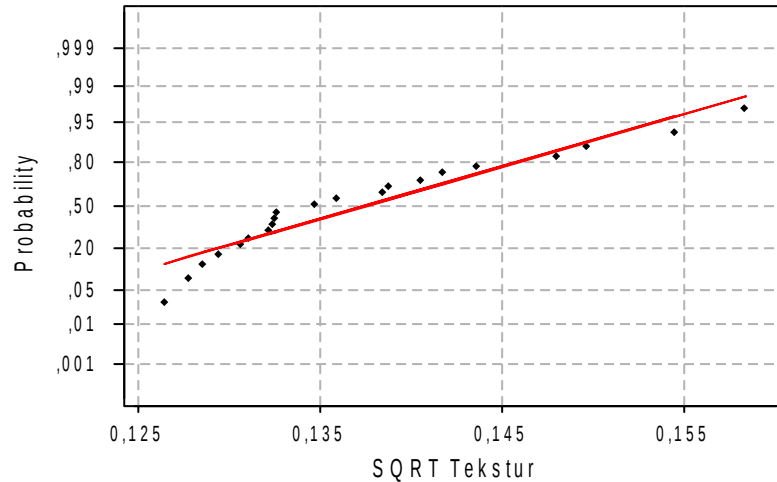
Berdasarkan grafik diatas, nilai $p = 0,030$ (data tidak menyebar normal karena $p < 0,05$).

Selanjutnya data ditransformasi dengan square root, sehingga:

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	0,1497	0,1584	0,1546	0,4627	0,1542
10	0,1435	0,1418	0,1480	0,4333	0,1444
12,5	0,1389	0,1345	0,1404	0,4138	0,1379
15	0,1311	0,1277	0,1327	0,3915	0,1305
17,5	0,1285	0,1265	0,1327	0,3876	0,1292
20	0,1308	0,1292	0,1323	0,3923	0,1308
22,5	0,1386	0,1323	0,1360	0,4069	0,1356

Normal Prob Plot: SQRT Tekstur

Normal Probability Plot



Average: 0,137497
 StDev: 0,0089914
 N: 21

Anderson-Darling Normality Test
 A-Squared: 0,707
 P-Value: 0,055

Berdasarkan grafik diatas nilai $p = 0,0552$ (data menyebar normal karena $p > 0,05$).

Kemudian dilanjutkan dengan ANOVA, sehingga:

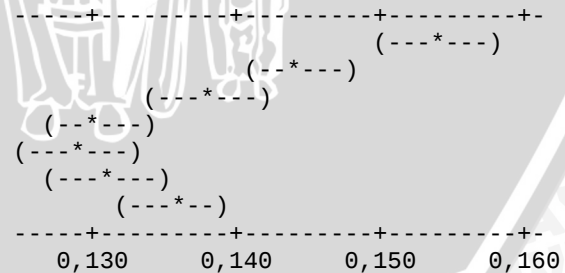
One-way ANOVA: SQRT Tekstur versus Starter

Source	DF	SS	MS
Starter	6	0,0014857	0,0002476
Error	14	0,0001313	0,0000094
Total	20	0,0016169	

F 26,41
 P 0,000

Level	N	Mean	StDev
7,5	3	0,15415	0,00441
10,0	3	0,14447	0,00323
12,5	3	0,13798	0,00299
15,0	3	0,13043	0,00242
17,5	3	0,12917	0,00311
20,0	3	0,13073	0,00137
22,5	3	0,13555	0,00307

Individual 95% CIs For Mean
 Based on Pooled StDev



Pooled StDev = 0,00306

Polynomial Regression Analysis: SQRT Tekstur versus Starter

The regression equation is

$$\text{SQRT Tekstur} = 0,204989 - 0,0084791 \text{ Starter} + 0,0002388 \text{ Starter}^2$$

S = 0,0028555

R-Sq = 90,9 %

R-Sq(adj) = 89,9 %

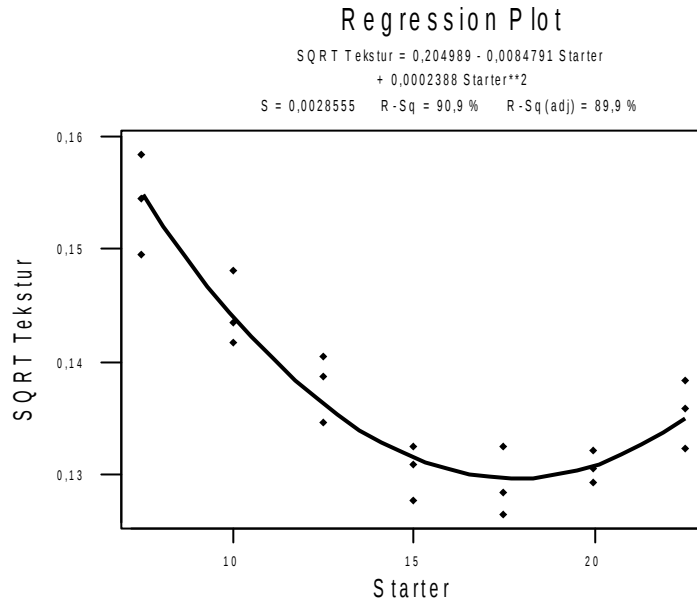
Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
--------	----	----	----	---	---

Regression	2	0,0014701	0,0007351	90,1487	0,000
Error	18	0,0001468	0,0000082		
Total	20	0,0016169			

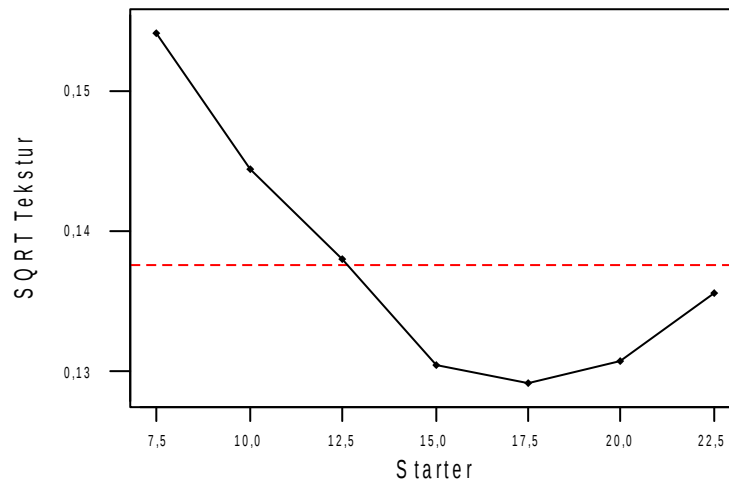
Source	DF	Seq SS	F	P
Linear	1	0,0009089	24,3914	0,000
Quadratic	1	0,0005612	68,8294	0,000

Fitted Line Plot: SQRT Tekstur versus Starter



Main Effects Plot for SQRT Tekstur

Main Effects Plot - Data Means for SQRT Tekstur



Penentuan Nilai Optimal Penggunaan Starter Berdasarkan Turunan Pertama Fungsi Kuadrat Regresi SQRT Tekstur

$$\text{SQRT Tekstur} = 0,204989 - 0,0084791 \text{ Starter} + 0,0002388 \text{ Starter}^2$$

$$y = 0,204989 - 0,0084791 x + 0,0002388 x^2$$

$$y' = -0,0084791 + 0,0004776 x$$

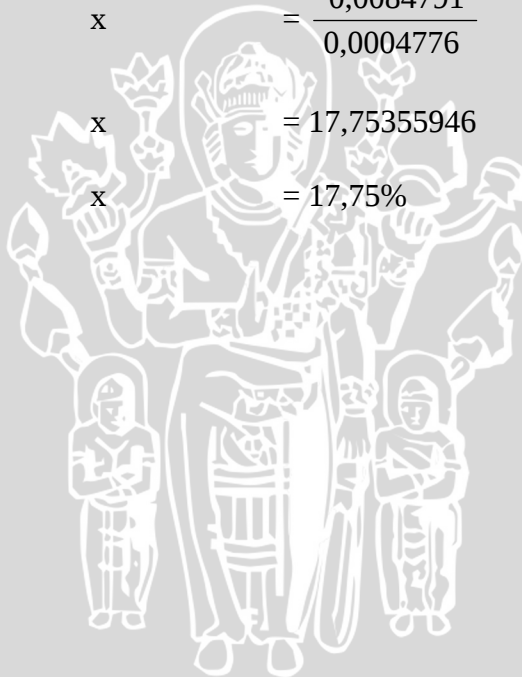
$$\text{Nilai optimal jika } y' = 0 \rightarrow 0 = -0,0084791 + 0,0004776 x$$

$$0,0004776 x = 0,0084791$$

$$x = \frac{0,0084791}{0,0004776}$$

$$x = 17,75355946$$

$$x = 17,75\%$$

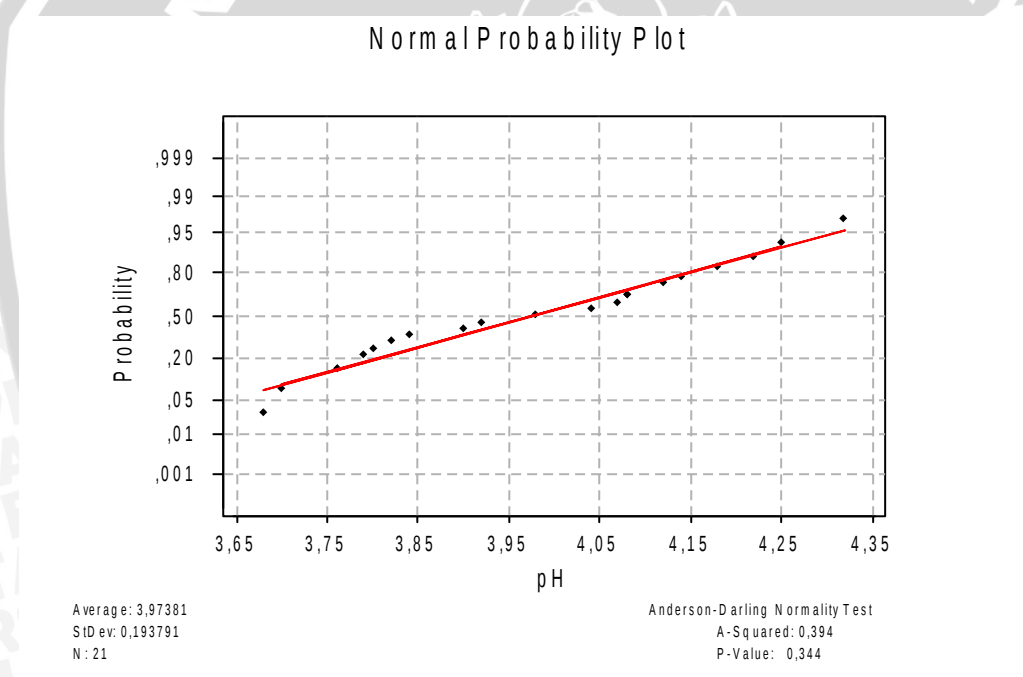


Lampiran 9 Data dan Perhitungan pH

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	4,22	4,25	4,32	12,79	4,26
10	4,14	4,12	4,18	12,44	4,15
12,5	4,08	4,07	4,08	12,23	4,08
15	4,04	3,98	3,92	11,94	3,98
17,5	3,90	3,79	3,80	11,49	3,83
20	3,84	3,70	3,68	11,22	3,74
22,5	3,76	3,82	3,76	11,34	3,78

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: pH



Berdasarkan grafik diatas nilai $p = 0,344$ (data menyebar normal karena $p > 0,05$).

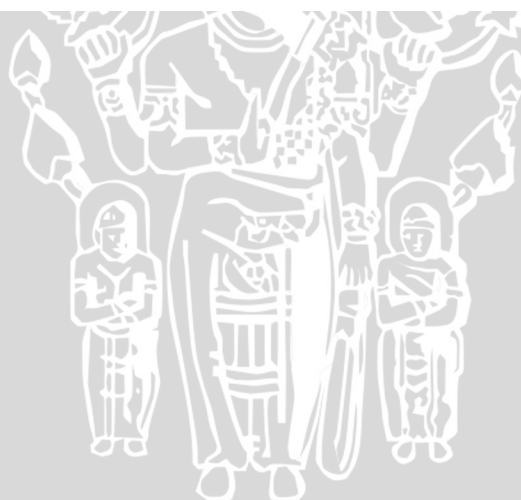
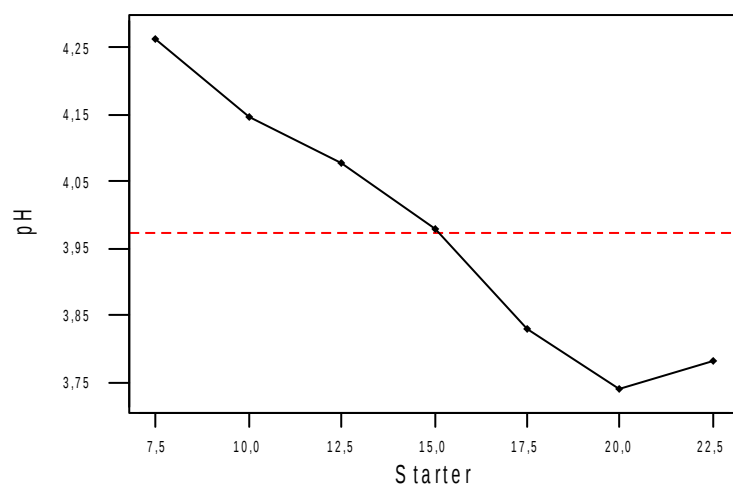
Kemudian dilanjutkan dengan ANOVA, sehingga:

A scatter plot showing the relationship between Starter concentration (x-axis) and pH (y-axis). The x-axis ranges from 0 to 25, and the y-axis ranges from 3.7 to 4.3. There are 18 data points represented by black diamonds. A solid black line represents the linear regression fit, showing a negative correlation between Starter concentration and pH.

Starter	pH
5	4.32
5	4.25
5	4.22
10	4.18
10	4.12
10	4.10
13	4.08
15	4.04
15	3.98
15	3.92
18	3.90
18	3.80
18	3.79
20	3.84
20	3.70
20	3.68
23	3.82
23	3.76

Main Effects Plot for pH

Main Effects Plot - Data Means for pH

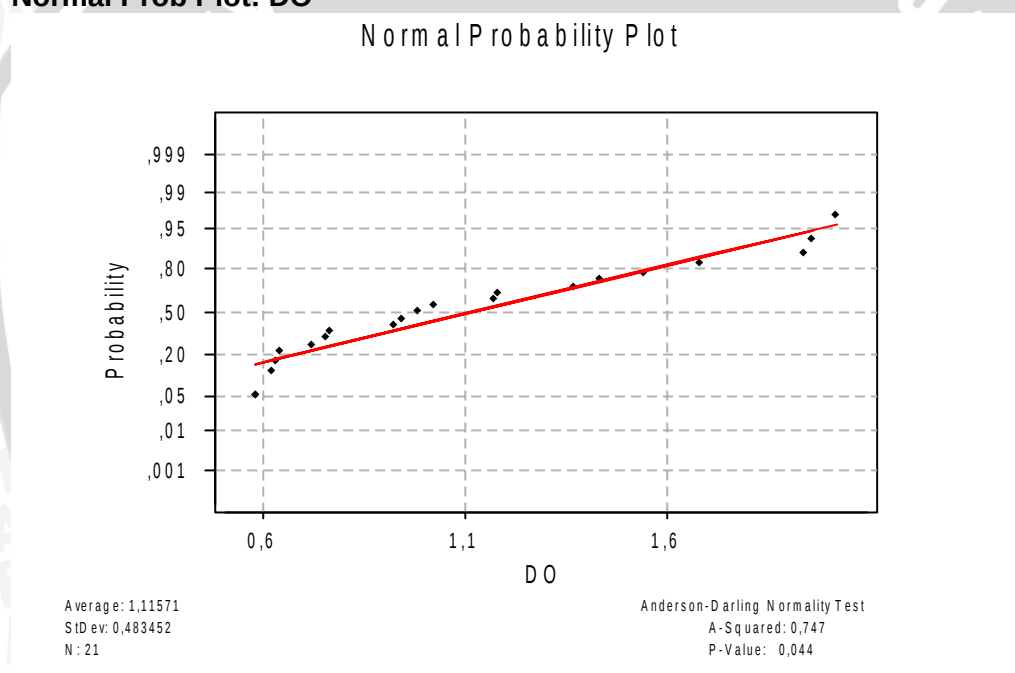


Lampiran 10. Data dan Perhitungan DO

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	2,02	1,96	1,94	5,92	1,97
10	1,54	1,43	1,68	4,65	1,55
12,5	1,17	1,18	1,37	3,72	1,24
15	0,94	0,98	1,02	2,94	0,98
17,5	0,76	0,72	0,92	2,40	0,80
20	0,64	0,63	0,75	2,02	0,67
22,5	0,58	0,58	0,62	1,78	0,59

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: DO



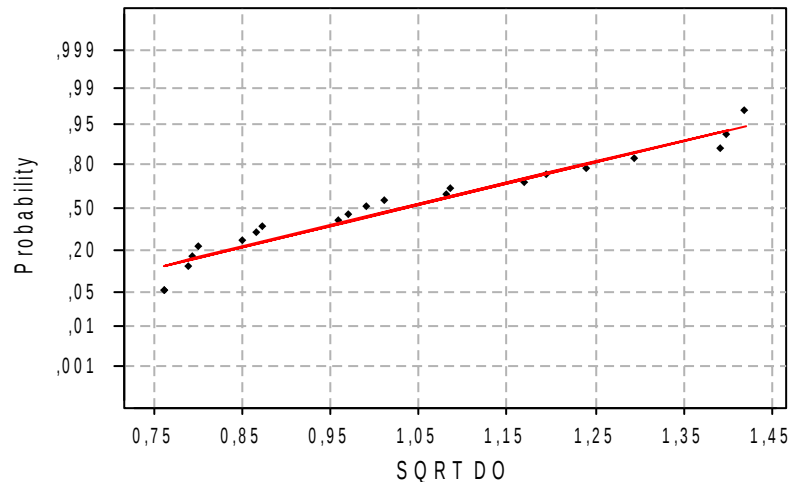
Berdasarkan grafik diatas, nilai $p = 0,044$ (data tidak menyebar normal karena $p < 0,05$).

Selanjutnya data ditransformasi dengan square root, sehingga:

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	1,4213	1,4000	1,3928	4,2141	1,4047
10	1,2410	1,1958	1,2961	3,7329	1,2443
12,5	1,0817	1,0863	1,1705	3,3384	1,1128
15	0,9695	0,9899	1,0100	2,9694	0,9898
17,5	0,8718	0,8485	0,9592	2,6795	0,8932
20	0,8000	0,7937	0,8660	2,4598	0,8199
22,5	0,7616	0,7616	0,7874	2,3106	0,7702

Normal Prob Plot: SQRT DO

Normal Probability Plot



Average: 1,03356
 StDev: 0,223271
 N: 21

Anderson-Darling Normality Test
 A-Squared: 0,553
 P-Value: 0,135

Berdasarkan grafik diatas nilai $p = 0,135$ (data menyebar normal karena $p > 0,05$).

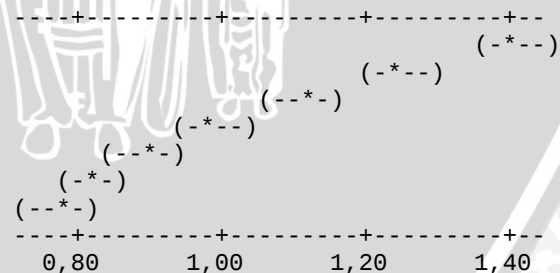
Kemudian dilanjutkan dengan ANOVA, sehingga:

One-way ANOVA: SQRT DO versus Starter

Analysis of Variance for SQRT DO					
Source	DF	SS	MS	F	P
Starter	6	0,97524	0,16254	104,57	0,000
Error	14	0,02176	0,00155		
Total	20	0,99700			

Level	N	Mean	StDev
7,5	3	1,4047	0,0148
10,0	3	1,2443	0,0502
12,5	3	1,1128	0,0500
15,0	3	0,9898	0,0202
17,5	3	0,8932	0,0583
20,0	3	0,8199	0,0401
22,5	3	0,7702	0,0149

Individual 95% CIs For Mean
 Based on Pooled StDev



Pooled StDev = 0,0394

Regression Analysis: SQRT DO versus Starter

The regression equation is
 $SQRT\ DO = 1,67041 - 0,0424570\ Starter$

S = 0,0516239

R-Sq = 94,9 %

R-Sq(adj) = 94,7 %

Analysis of Variance

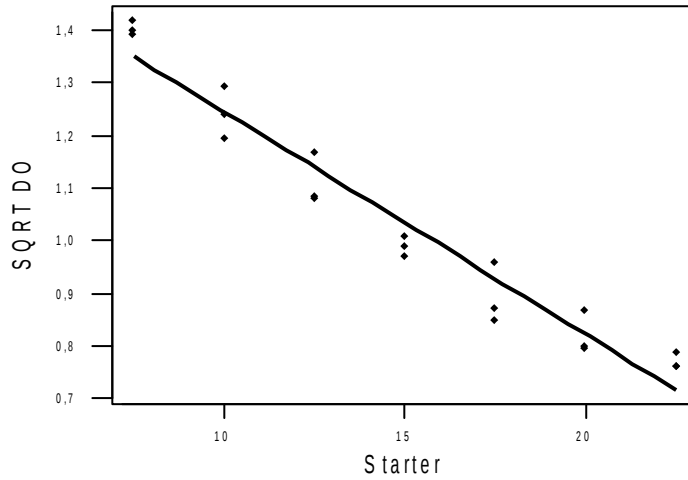
Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0,946364	0,946364	355,105	0,000
Error	19	0,050635	0,002665		
Total	20	0,996999			

Fitted Line Plot: SQRT DO versus Starter

Regression Plot

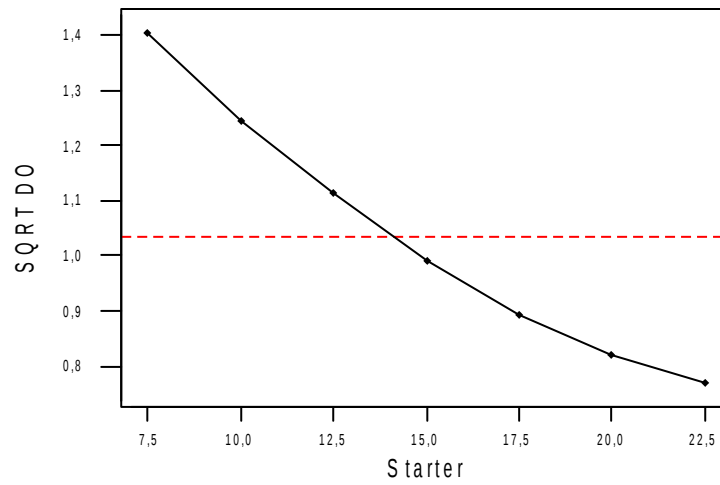
$$\text{SQRT DO} = 1,67041 - 0,0424570 \text{ Starter}$$

S = 0,0516239 R-Sq = 94,9 % R-Sq(adj) = 94,7 %



Main Effects Plot for SQRT DO

Main Effects Plot - Data Means for SQRT DO



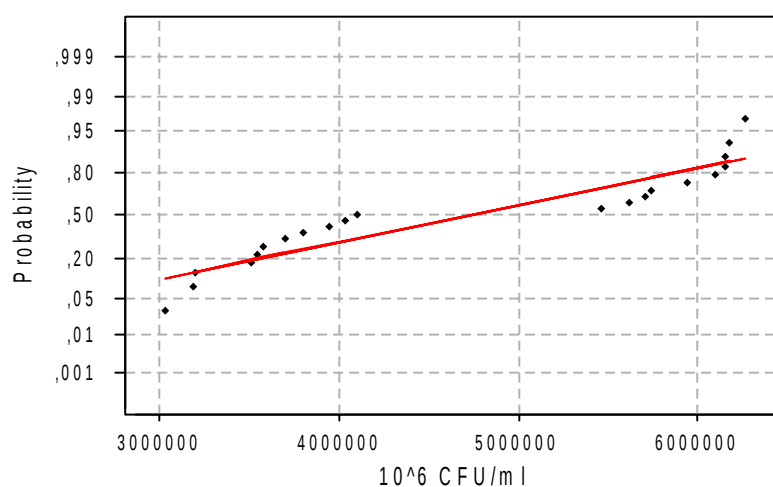
Lampiran 11. Data dan Perhitungan Konsentrasi Bakteri Akhir (10^6 cfu/ml)

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	5,74	5,46	5,61	16,81	5,60
10	6,15	6,09	6,15	18,39	6,13
12,5	5,94	6,17	6,27	18,38	6,13
15	4,10	5,70	4,03	13,83	4,61
17,5	3,54	3,94	3,80	11,28	3,76
20	3,69	3,50	3,57	10,76	3,59
22,5	3,03	3,18	3,19	9,40	3,13

Uji kenormalan data dengan menggunakan metode Anderson darling

Normal Prob Plot: Konsentrasi Bakteri Akhir (10^6 cfu/ml)

Normal Probability Plot



Average: 4707190
Std Dev: 1234174
N: 21

Anderson-Darling Normality Test
A-Squared: 1,417
P-Value: 0,001

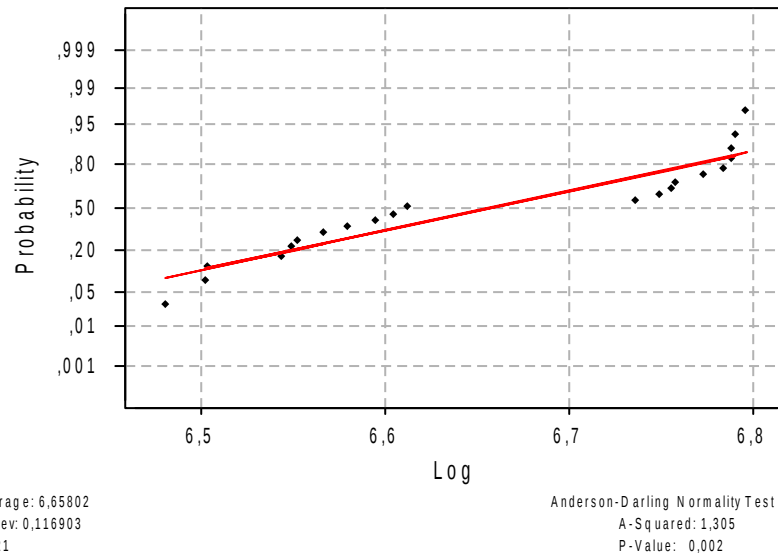
Berdasarkan grafik diatas, nilai $p = 0,001$ (data tidak menyebar normal karena $p < 0,05$).

Selanjutnya data ditransformasi dengan log, sehingga:

Starter (%)	Ulangan			Total	Rata-rata
	1	2	3		
7,5	6,759	6,737	6,749	20,245	6,748
10	6,789	6,785	6,789	20,362	6,787
12,5	6,774	6,791	6,797	20,362	6,787
15	6,613	6,756	6,605	19,974	6,658
17,5	6,549	6,596	6,580	19,724	6,575
20	6,567	6,544	6,553	19,664	6,555
22,5	6,481	6,503	6,504	19,487	6,496

Normal Prob Plot: Log Konsentrasi Bakteri

Normal Probability Plot



$p = 0,002$. Data tidak normal ($p < 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji kruskal wallis.

Kruskal-Wallis Test: Log versus Starter

Starter	N	Median	Ave Rank	Z
7,5	3	6,749	13,3	0,70
10,0	3	6,789	18,0	2,11
12,5	3	6,791	19,0	2,41
15,0	3	6,613	11,7	0,20
17,5	3	6,580	7,3	-1,11
20,0	3	6,553	5,7	-1,61
22,5	3	6,503	2,0	-2,71
Overall	21		11,0	

$H = 18,84$ $DF = 6$ $P = 0,004$

Karena $p < 0,05$ maka tolak H_0 , berarti terdapat pengaruh perbedaan konsentrasi starter terhadap Konsentrasi Bakteri akhir. Selanjutnya diteruskan dengan uji lanjut.

$$|R_i - R_j| \leq Z \left[1 - \left[\frac{\alpha}{k(k-1)} \right] \right] \sqrt{\frac{N(N+1)}{12} \left(\frac{1}{r_i} + \frac{1}{r_j} \right)}$$

$$k = \frac{\alpha}{k(k-1)} = \frac{0.05}{7(7-1)} = 0.00119$$

$$Z > 0.00119 = 3,04982$$

$$|R_i - R_j| \leq 3,04982 \sqrt{\frac{21(21+1)}{12} \left(\frac{1}{7} + \frac{1}{3} \right)}$$

$$|R_i - R_j| \leq 13,05856$$

Starter (%)	Ri	Starter (%) dan nilai tengahnya							Notasi
		22,5	20	17,5	15	7,5	10	12,5	
		2	5,7	7,3	11,7	13,3	18	19	
22,5	2	-	3,7	5,3	9,7	11,3	16*	17*	a
20	5,7		-	1,6	6	7,6	12,3	13,3*	ab
17,5	7,3			-	4,4	6	10,7	11,7*	ab
15	11,7				-	1,6	6,3	7,3	ab
7,5	13,3					-	4,7	5,7	b
10	18						-	1	b
12,5	19							-	b

Regression Analysis: Log versus Starter

The regression equation is
 $\text{Log} = 6,96568 - 0,0205108 \text{ Starter}$

$S = 0,0525466$ $R\text{-Sq} = 80,8 \%$ $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 79,8 \%$

Analysis of Variance

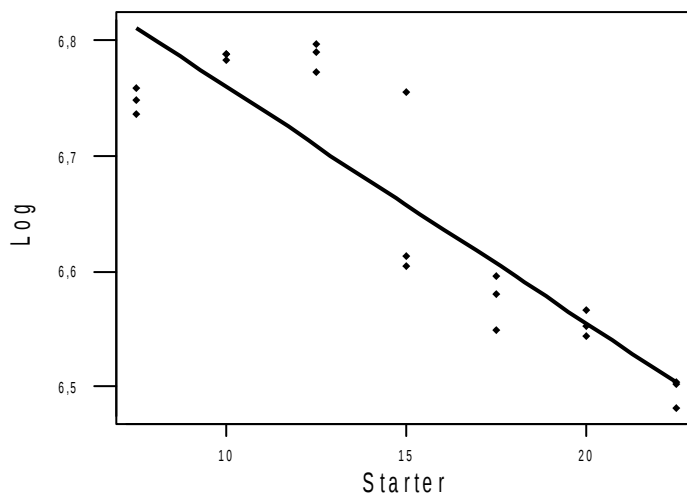
Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	1	0,220864	0,220864	79,9899	0,000
Error	19	0,052462	0,002761		
Total	20	0,273326			

Fitted Line Plot: Konsentrasi Bakteri versus Starter

Regression Plot

$\text{Log} = 6,96568 - 0,0205108 \text{ Starter}$

$S = 0,0525466$ $R\text{-Sq} = 80,8 \%$ $R\text{-Sq}(\text{adj}) = 79,8 \%$

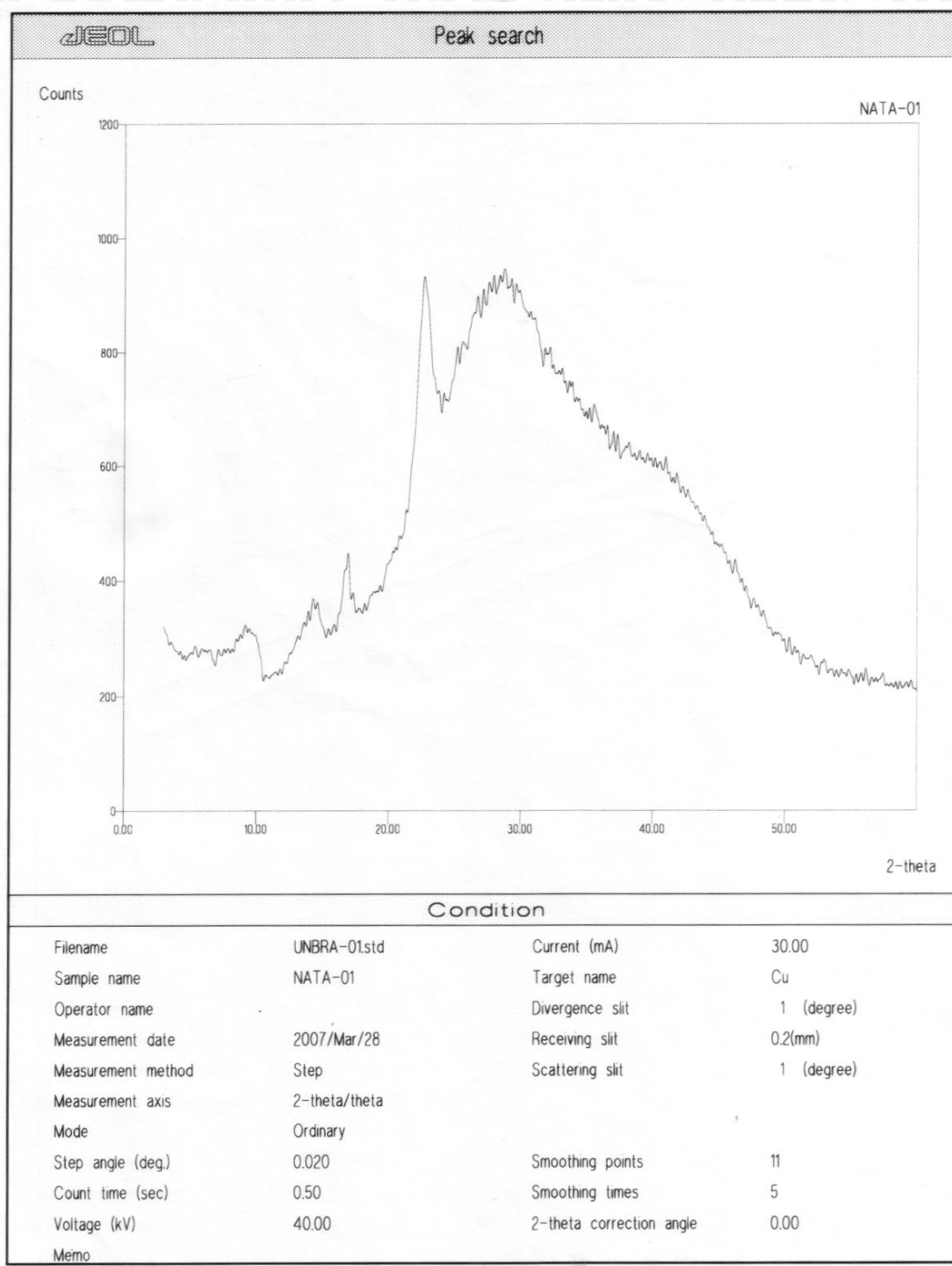


Lampiran 12. Perhitungan Perlakuan Terbaik

Notasi	Konsentrasi Starter (v/v)	Total Media (ml)	Tebal (mm)	Massa (gram)	Rendemen (%)	Serat (%)	Tekstur (mm/g.s)	K Air Wb (%)
A	7,50%	750	10,64	278,24	37,10%	3,61	0,023776	94,87
B	10,00%	750	16,16	349,68	46,62%	4,48	0,020878	93,08
C	12,50%	750	20,13	383,99	51,20%	4,80	0,019045	91,97
D	15,00%	750	25,61	434,12	57,88%	4,88	0,017015	91,79
E	17,50%	750	26,09	447,96	59,73%	4,65	0,016691	92,77
F	20,00%	750	26,30	456,13	60,82%	4,18	0,017091	94,01
G	22,50%	750	26,12	447,95	59,73%	3,97	0,018380	94,38

			Ketebalan	Rendemen	Serat	Tekstur	Kadar Air	Jumlah
Variabel			0,7463	0,7015	1	0,3881	0,5149	3,3507
Bobot Normal			0,2227	0,2094	0,2984	0,1158	0,1537	1,0000
Perlakuan	A	Ne	0,0000	0,0000	0,0000	1,0000	0,0000	
		Nh	0,0000	0,0000	0,0000	0,1158	0,0000	0,1158
	B	Ne	0,3521	0,4016	0,6826	0,5909	0,5824	
		Nh	0,0784	0,0841	0,2037	0,0684	0,0895	0,5242
	C	Ne	0,6056	0,5945	0,9354	0,3322	0,9429	
		Nh	0,1349	0,1245	0,2792	0,0385	0,1449	0,7219
	D	Ne	0,9560	0,8763	1,0000	0,0457	1,0000	
		Nh	0,2129	0,1835	0,2984	0,0053	0,1537	0,8538
	E	Ne	0,9869	0,9541	0,8221	0,0000	0,6814	
		Nh	0,2198	0,1997	0,2453	0,0000	0,1047	0,7696
	F	Ne	1,0000	1,0000	0,4493	0,0564	0,2793	
		Nh	0,2227	0,2094	0,1341	0,0065	0,0429	0,6156
	G	Ne	0,9883	0,9540	0,2850	0,2384	0,1600	
		Nh	0,2201	0,1997	0,0851	0,0276	0,0246	0,5571

Hasil perhitungan perlakuan terbaik adalah pada perlakuan D (Penggunaan konsentrasi starter 15% (v/v)) yaitu 0,8538.

Lampiran 13. Grafik, Data dan Perhitungan Derajat Kristalinitas.**- Grafik Difraktogram Sinar X****Gambar 19. Grafik Difraktogram Sinar X**

- **Data Difraktogram Sinar X**

Sampel	Fase Amorf	Fase Kristalin
Nata SRC	0,208800	0,070300

- **Perhitungan Derajat Kristalinitas**

$$\text{Rumus Perhitungan Derajat Kristalinitas} = \frac{\text{Fase Kristalin}}{\text{Fase Kristalin} + \text{Fase Amorf}} \times 100\%$$

$$\text{Derajat kristalinitas Nata SRC} = \frac{0,070300}{0,070300 + 0,208800} \times 100\% = 25,19\%$$

