

**PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PEMBUATAN
NATA (BAKTERIAL SELULOSA)
DENGAN BAHAN DASAR *WHEY* HASIL SAMPING
KOAGULASI SUSU DENGAN BROMELIN**

SKRIPSI

oleh:

SIWI IKA PERTIWI

0510920056-92



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2009**

**PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PEMBUATAN
NATA (BAKTERIAL SELULOSA)
DENGAN BAHAN DASAR *WHEY* HASIL SAMPING
KOAGULASI SUSU DENGAN BROMELIN**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh:

SIWI IKA PERTIWI

0510920056-92



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2009

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PEMBUATAN
NATA (BAKTERIAL SELULOSA)
DENGAN BAHAN DASAR *WHEY* HASIL SAMPING
KOAGULASI SUSU DENGAN BROMELIN**

oleh:

**SIWI IKA PERTIWI
0510920056-92**

**Setelah dipertahankan didepan Majelis Penguji
pada tanggal.....
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia**

Pembimbing I

Pembimbing II

**Arie Srihardyastutie, S.Si., MKes
NIP. 132 300 238**

**Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS
NIP. 130 809 059**

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Dr. Sasangka Prasetyawan, M.S.
NIP. 131 653 134**

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Siwi Ika Pertiwi
NIM : 0510920056-92
Jurusan : Kimia

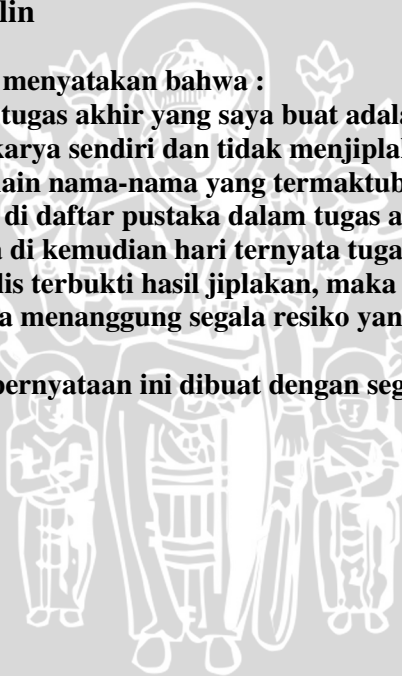
Penulis skripsi berjudul :

Penentuan Kondisi Optimum Pembuatan Bakterial Selulosa (Nata) dengan Bahan Dasar Whey Hasil Samping Koagulasi Susu dengan Bromelin

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari tugas akhir yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam tugas akhir ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata tugas akhir yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.



Malang,
Yang menyatakan,

(Siwi Ika Pertiwi)
NIM. 0510920056-92

**PENENTUAN KONDISI OPTIMUM PEMBUATAN
NATA (BAKTERIAL SELULOSA)
DENGAN BAHAN DASAR *WHEY* HASIL SAMPING
KOAGULASI SUSU DENGAN BROMELIN**

ABSTRAK

Whey merupakan hasil samping koagulasi susu yang salah satunya menggunakan bromelin. *Whey* terdiri dari laktosa dan protein yang cocok digunakan sebagai media tumbuh *Acetobacter xylinum* sehingga menghasilkan nata. Tujuan penelitian ini adalah menentukan kondisi optimum meliputi pH awal dan lama inkubasi pada pembuatan nata serta mengetahui kadar serat kasar nata pada kondisi optimumnya. Media fermentasi berupa *whey* yang telah ditambahkan 0,5 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dan diatur pada variasi pH yang kemudian disterilkan. pH optimum ditentukan dengan menambahkan 15 % v/v starter *Acetobacter xylinum* pada 170 mL media fermentasi dengan variasi pH 3,5 ; 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5. Kemudian, media fermentasi ditutup dengan kertas dan diinkubasi selama 6 hari pada temperatur ruang. Penentuan lama inkubasi dilakukan pada pH optimum dengan variasi waktu 1, 3, 5, 7, 9, 11, dan 13 hari. Hasil penelitian ditunjukkan bahwa pH optimum pembuatan nata dari *whey* adalah 4,5 ($P < 0,05$) dan lama inkubasi optimum 11 hari ($P < 0,01$) dengan tebal nata sebesar 0,343 cm serta diperoleh kadar serat kasar nata sebesar 2,3 %.

Kata kunci : nata, *Acetobacter xylinum*, pH, lama inkubasi

DETERMINATION OF OPTIMUM CONDITION AT NATA PRODUCTION (CELLULOSE BACTERIAL) WITH MATERIAL BASIC WHEY BY PRODUCT OF MILK COAGULATION WITH BROMELIN

ABSTRACT

Whey is the other result of milk coagulation which one of them use bromelin. Whey contains of lactose and protein which suitable can be used for growth medium of *Acetobacter xylinum* that will produce nata. The aims of this research are to determine of optimum condition around the first pH and incubation duration of nata production and to know the ammount of nata fiber in optimum condition. Fermentation medium is whey added 0.5 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and be arranged at pH variation then be sterilized. Optimum pH is determined by adding 15 % v/v starter of *Acetobacter xylinum* at 170 mL fermentation medium by pH variation 3.5 ; 4.0 ; 4.5 ; 5.0 ; 5.5. Then, fermentation medium is closed with paper and incubated during six days at room temperature. Determination of incubation duration was done at optimum pH with time variation 1, 3, 5, 7, 9, 11, and 13 days. The results showed that optimum pH of nata production is 4,5 ($P < 0.05$) and incubation duration is 11 days ($P < 0.01$) which thick of nata about 0,343 cm and the fiber percent is 2.3 %.

Key word:nata, *Acetobacter xylinum* pH, duration of incubation

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah dan petunjuk serta ridhoNya sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada revolusioner terbesar kita Nabi besar Muhammad SAW beserta pengikutnya hingga akhir zaman.

Skripsi berjudul *Penentuan Kondisi Optimum Pembuatan Bakterial Selulosa (Nata) dengan Bahan Dasar Whey Hasil Koagulasi Susu dengan Bromelin* ini disusun sebagai salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.

Penyusunan tugas akhir ini tidak lepas dari bantuan yang diberikan oleh berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Arie Srihardyastutie, Ssi., MKes selaku dosen pembimbing I atas segala kesabaran dalam membimbing dan pengarahan yang diberikan kepada penulis selama penyusunan tugas akhir ini.
2. Dr. Ir. Chanif Mahdi, MS, selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan dengan penuh kesabaran
3. Dr. Sasangka Prasetyawan, M.S., selaku Ketua Jurusan Kimia yang telah memberikan fasilitas untuk mengadakan penelitian di seluruh laboratorium kimia.
4. Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc, selaku penasehat akademik yang telah memberikan bimbingan selama kuliah.
5. Dr. Soebiantoro, Apt.MSc., Drs. Danar P., MSi., Dr. Diah Mardiana, MS., Dr. Barlah Rumhayati, selaku dosen penguji yang telah banyak memberikan masukan dalam perbaikan skripsi ini.
6. Seluruh staf dan karyawan Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, terimakasih atas segala ilmu dan bantuan yang diberikan
7. Bapak dan Ibu serta adik terima kasih atas semua doa, kasih sayang, semangat, perhatian dan semua dukungan yang tidak terhingga.
8. Semua pihak yang telah membantu tersusunnya skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari sempurna, sehingga kritik dan saran diharapkan dari pembaca. Semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Malang, Juli 2009

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK.....	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Perumusan Masalah.....	2
1.3. Batasan Masalah.....	2
1.4. Tujuan Penelitian.....	3
1.5. Manfaat Penelitian.....	3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Susu	4
2.1.1. Air	4
2.1.2. Lemak.....	4
2.1.3. Protein	5
2.1.4. Laktosa	5
2.1.5. Vitamin dan Enzim.....	5
2.2. Whey	5
2.3. Bromelin	7
2.4. Nata (Bakterial Selulosa)	8
2.5. <i>Acetobacter xylinum</i>	8
2.6. Polimerisasi Glukosa oleh <i>Acetobacter xylinum</i>	10
2.7. Faktor – faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri	11
2.6. Hipotesis.....	12

BAB III METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	13
3.2. Bahan.....	13
3.3. Alat	13
3.4. Tahapan Penelitian	13
3.5. Cara Kerja	
3.5.1. Penyiapan Bromelin	14
3.5.2. Pasteurisasi Susu	14
3.5.3. Koagulasi Susu dengan Koagulan Bromelin.....	14
3.5.4. Isolasi <i>Whey</i> dari Susu	14
3.5.5. Penentuan pH Awal Optimum.....	14
3.5.6. Penentuan Lama Inkubasi Optimum	15
3.5.7. Analisa Kadar Serat.....	15

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penentuan Kondisi Optimum Pembentukan Nata	
4.1.1 pH Optimum	16
4.1.2 Lama Inkubasi Optimum	22
4.2. Kadar Serat Kasar	25

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan.....	27
5.2. Saran.....	27

DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1. Kandungan <i>Whey</i>	6
Tabel 2.2. Komposisi Rata-rata <i>Whey</i>	6
Tabel 4.1. Tebal Nata terhadap Faktor pH	15
Tabel 4.2. Tebal Nata terhadap Faktor Lama Inkubasi	22
Tabel 4.3. Kadar Serat Kasar	26
Tabel L.2.1 Data Pengaruh PH	37
Tabel L.2.2 Analisa Sidik Ragam Satu Arah Penentuan pH	38
Tabel L.2.3 Selisih Rerata antar Perlakuan pH	39
Tabel L.2.4 Hasil Analisis BNT 5% pH awal terhadap tebal nata	39
Tabel L.3.1 Data Pengaruh Lama Inkubasi	40
Tabel L.3.2 Analisa Sidik Ragam Satu Arah Penentuan Lama Inkubasi	41
Tabel L.3.3 Selisih Rerata antar Perlakuan Lama Inkubasi	42
Tabel L.3.4 Hasil Analisis BNT 5% Lama Inkubasi terhadap Tebal Nata	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Struktur Molekul Selulosa	8
Gambar 2.2 Jalur Biosintesis Selulosa	10
Gambar 4.1 Grafik Pengaruh pH terhadap Tebal Nata	17
Gambar 4.2 Jalur Biosintesis Selulosa.....	18
Gambar 4.3 Jalur Glikolisis	20
Gambar 4.4 Reaksi Polimerisasi Selulosa	21
Gambar 4.2 Grafik Pengaruh Lama Inkubasi terhadap Tebal Nata	23



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
LAMPIRAN 1. Diagram Kerja Penelitian	32
LAMPIRAN 2. Analisa Ragam pH terhadap Tebal Nata	37
LAMPIRAN 3. Analisa Ragam Lama Inkubasi terhadap Tebal Nata	40
LAMPIRAN 4. Kadar Serat Kasar.....	43



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut Khomsan (2002), susu merupakan minuman bergizi yang mengandung protein 3,2% dan kaya akan mineral kalsium (143 mg/100 g susu). Nutrisi yang banyak terdapat dalam susu menyebabkan susu sebagai media yang paling baik bagi pertumbuhan mikroba (Abubakar dan Ilyas, 2005). Mikroorganisme yang terdapat di dalam susu akan menyebabkan susu menjadi rusak sehingga membahayakan kesehatan masyarakat sebagai konsumen. Selain itu, menyebabkan daya simpan susu menjadi relatif singkat (Saleh, 2004). Susu yang telah rusak tidak dapat dijadikan sebagai bahan makanan sehingga hanya akan terbuang sebagai limbah dan kondisi ini sangat berpengaruh pada pendapatan peternak sebagai produsen susu.

Salah satu cara untuk mengatasi limbah susu adalah koagulasi susu menggunakan enzim. Enzim ini merupakan salah satu protein yang dapat mempercepat reaksi biologis. Salah satu enzim yang dapat digunakan adalah bromelin (Zakiah, 2008). Enzim ini diperoleh dari buah nanas sehingga lebih aman digunakan dalam produksi makanan.

Hasil koagulasi susu berupa *curd* (gumpalan) dan *whey* (cairan). *Curd* yang diperoleh dapat dimanfaatkan sebagai keju, krupuk susu, dan permen susu. Sedangkan *whey* belum dimanfaatkan secara maksimal. Sementara, menurut Jenie dan Rahayu (1993) di dalam *whey* masih terdapat 4,7 % laktosa yang merupakan salah satu jenis karbohidrat. Selain kandungan laktosa, di dalam *whey* juga terdapat 0,6–1 % protein. Keberadaan laktosa yang cukup besar dan juga protein, menyebabkan *whey* cocok digunakan sebagai media tumbuhnya *Acetobacter xylinum*. Menurut Pambayun (2002), sifat yang paling menonjol dari bakteri ini adalah kemampuannya dalam mempolimerisasi glukosa menjadi selulosa. Selanjutnya selulosa ini membentuk matrik yang dikenal selama ini produknya sebagai nata.

Nata dapat dimanfaatkan sebagai bahan makanan karena nata mempunyai tekstur yang lembut dengan serat yang tinggi. Selain sebagai bahan konsumsi, nata dapat dimanfaatkan sebagai

biomembran karena memiliki kesamaan struktur dengan kapas yang telah dikaji oleh Sutriah dan Ahmad (2000).

Pertumbuhan *Acetobacter xylinum* sangat berpengaruh dalam produksi nata. Salah satu faktor yang berpengaruh dalam pertumbuhan bakteri ini adalah pH. Menurut Fardiaz (1992) yang dikutip oleh Nadiyah dkk (2005) menyebutkan bahwa selain ketersediaan nutrisi pada medium, faktor yang mempengaruhi kemampuan *Acetobacter xylinum* menghasilkan selulosa adalah pH awal. *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh pada kisaran pH 3,5 sampai 7,5 dengan pH optimum 4-5.

Selain faktor pH, pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dipengaruhi oleh lama inkubasi pada substrat yang berbeda. Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Misgiyarta (2009), lama inkubasi pada substrat yang berbeda menyebabkan tebal nata yang terbentuk berbeda pula.

Berkaitan dengan hal di atas, maka pada penelitian ini diteliti mengenai kondisi optimum yang meliputi pH awal dan lama inkubasi pada pembuatan nata dengan bahan dasar *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin sehingga dapat diperoleh nata yang optimum serta untuk mengetahui kadar serat kasar nata pada kondisi optimum.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana kondisi optimum yang meliputi pH awal dan lama inkubasi pada pembuatan nata yang dibuat dari *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin ?
2. Bagaimana kadar serat kasar nata yang dibuat dari *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin pada kondisi optimum?

1.3 Batasan Masalah

1. Susu yang digunakan adalah susu sapi segar yang diperoleh dari KUD susu, Sengkaling Dau, Malang.
2. *Acetobacter xylinum* yang ditambahkan adalah sebesar 15 % v/v.

3. Penelitian ini hanya akan meneliti terkait kondisi optimum pada pembuatan nata yang dibuat dari *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin meliputi pH awal dan lama inkubasi yang dilakukan pada temperatur ruang.

1.4 Tujuan

1. Mengetahui kondisi optimum yang meliputi pH awal dan lama inkubasi terhadap pembentukan nata yang dibuat dari *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin.
2. Mengetahui kadar serat kasar nata yang dibuat dari *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin pada kondisi optimum.

1.5 Manfaat

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang pemanfaatan *whey* dari susu untuk pembuatan nata yang dilakukan dengan cara fermentasi menggunakan *Acetobacter xylinum*, khususnya memberikan informasi terkait kondisi optimum pada pembentukan nata yang dibuat dari *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin yang meliputi pH awal dan lama inkubasi serta kadar serat kasar nata yang dihasilkan pada kondisi optimum.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Susu

Susu merupakan hasil pemerahan dari ternak sapi perah atau dari ternak menyusui lainnya yang diperah secara kontinyu dan komponen-komponennya tidak dikurangi dan tidak ditambahkan bahan-bahan lain. Susu segar merupakan cairan yang berasal dari ambing sapi sehat dan bersih yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar dengan kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu dan belum mendapat perlakuan apapun (Dewan Standarisasi Nasional, 1998). Menurut Saleh (2004), air susu merupakan bahan makanan yang istimewa bagi manusia karena kelezatan dan komposisinya yang ideal. Selain air susu mengandung semua zat yang dibutuhkan oleh tubuh, semua zat makanan yang terkandung dalam air susu dapat diserap oleh darah dan dimanfaatkan oleh tubuh. Sebagai bahan makanan atau minuman, air susu sapi mempunyai nilai gizi yang tinggi, karena mengandung unsur-unsur kimia yang dibutuhkan oleh tubuh seperti kalsium, fosfor, vitamin A, vitamin B dan riboflavin yang tinggi. Komposisi susu yang mudah dicerna dan juga kandungan protein, mineral dan vitamin yang tinggi, menjadikan susu sebagai sumber bahan makanan yang fleksibel yang dapat diatur kadar lemaknya, sehingga dapat memenuhi keinginan dan selera konsumen

Komponen-komponen susu yang terpenting adalah protein dan lemak. Kandungan protein susu berkisar antara 3-5 % dan lemak berkisar antara 3-8 %. Kandungan energi susu sebesar 65 kkal dengan pH sebesar 6,7. Komposisi rata-rata susu adalah sebagai berikut (Saleh, 2004):

2.1.1 Air

Air susu mengandung air 87,90%, yang berfungsi sebagai bahan pelarut bahan kering. Air di dalam susu sebagian besar dihasilkan dari air yang diminum sapi.

2.1.2 Lemak

Kadar lemak didalam air susu adalah 3,45%. Kadar lemak sangat berarti dalam penentuan nilai gizi air susu. Asam lemak yang terdapat dalam air susu terdiri dari 2 golongan yaitu asam lemak

yang dapat larut (*butyric, caproic, caprylic* dan *capric*) serta asam lemak yang tidak dapat larut (*leauric, myristic, palmitic* dan *oleic*). Berat jenis air susu 0,93 g/mL dan lebih ringan daripada air. Hal ini menyebabkan lemak mengapung atau membentuk lapisan di permukaan air susu apabila air susu didinginkan. Besar kecilnya butir lemak ditentukan oleh kadar air yang ada didalamnya. Semakin banyak air maka semakin besar globuler dan keadaan ini dikhawatirkan susu akan menjadi pecah. Apabila globuler pecah maka air susu disebut pecah.

2.1.3 Protein

Kadar protein dalam air susu rata-rata 3,20% yang terdiri dari 2,70% kasein (bahan keju), dan 0,50% albumen. 26,50% dari bahan kering air susu adalah protein. Selain kasein dan albumen, di dalam air susu juga terdapat globulin dengan jumlah yang sedikit.

2.1.4 Laktosa

Laktosa adalah bentuk karbohidrat yang terdapat dalam air susu. Bentuk ini tidak terdapat dalam bahan-bahan makanan yang lain. Kadar laktosa di dalam air susu adalah 4,60% dan ditemukan dalam keadaan larut. Laktosa terbentuk dari dua komponen gula yaitu glukosa dan galaktosa. Sifat air susu yang sedikit manis ditentukan oleh laktosa. Kadar laktosa dalam air susu dapat dirusak oleh beberapa jenis kuman pembentuk asam susu.

2.1.5 Vitamin dan enzim

Kadar vitamin dalam air susu tergantung dari jenis makanan yang diperoleh ternak sapi. Vitamin yang larut didalam air susu terdiri dari vitamin B komplek, vitamin C, vitamin A, provitamin A dan vitamin D. Vitamin yang larut didalam air susu yang terpenting ialah vitamin B1, B2, asam nikotinat dan asam pantotenat. Sedangkan beberapa enzim terkenal yang terdapat dalam susu adalah peroxydase, reductase, katalase dan phospatase. Enzim–enzim ini berfungsi untuk mengolah suatu bahan menjadi bahan lain. Pemanasan yang tinggi menyebabkan enzim tidak berfungsi lagi.

2.2 Whey

Whey merupakan cairan hasil pemisahan lemak dan kasein dari susu dengan menggunakan koagulan (Fox, 2000). Kandungan yang terdapat dalam *whey* ditunjukkan dalam Tabel 2.1

Tabel 2.1. Kandungan *Whey*

Kandungan	Jumlah
Laktosa	4,7 %
Protein	0,6–1 %

Whey terdiri dari dua jenis yaitu *whey* manis dan *whey* asam.. *Whey* manis pada umumnya diperoleh dari limbah keju yang menggunakan enzim. Sedangkan *whey* asam diperoleh dengan menggunakan asam dalam metode koagulasinya, misalnya asam asetat, asam laktat dan sebagainya (Fanny, 2008). Komposisi *whey* segar dapat dilihat pada Tabel 2.2

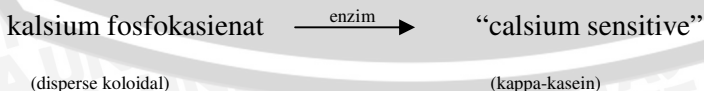
Tabel 2.2. Komposisi Rata-rata *Whey*

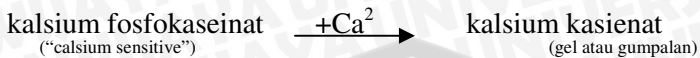
Komposisi	<i>Whey</i> asam (g / l)	<i>Whey</i> manis (g / l)
pH	4,6–4,8	5,9–6,4
Total padatan	6,3–7,0	6,3–7,0
Laktosa	4,4–4,6	4,6–5,2
Protein	6,0–7,0	0,7–0,9
Lemak	0,1	0,35
Air	93,0	93,0
Abu	0,7	0,6

Sumber Clark (1992)

Whey diperoleh melalui pengendapan pada titik isoelektriknya dengan menggunakan koagulan asam atau enzim (Fox, 2000). Ada tiga cara melakukan koagulasi susu. Cara yang paling sering dipakai adalah menggunakan enzim, salah satu protein yang berkemampuan mempercepat reaksi biologis. Salah satu enzim yang dapat digunakan adalah enzim bromelin. Sedangkan cara penggumpalan kedua, adalah melalui penambahan asam yang dihasilkan bakteri asam laktat ke dalam susu. Bisa juga asam organik, seperti asam sitrat, asam asetat, asam tartarat, atau *whey* yang telah diasamkan. Cara selanjutnya untuk menggumpalkan susu dengan menggunakan asam dan pemanasan tinggi (Zakiah, 2008).

Menurut (Winarno, 1995) mekanisme terbentuknya gel (kalsium kaseinat) adalah sebagai berikut :





Renin secara spesifik memotong antara asam amino phenilalanin (105) dan methionin (106) dan menghasilkan 2 fragmen. Fragmen yang terlarut (residu 106-169) disebut *whey* atau glikomakro peptida yang mengandung gugus glicosilation untuk kasein. Fragmen yang tidak larut (1-105) disebut *curd* (The Vegetarian Society, 2008).

Menurut Prawesthirini (2004), *whey* yang merupakan hasil samping pembuatan keju dapat dijadikan sebagai substrat dasar dari medium pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum*. Hal ini, menunjukkan bahwa *whey* dari susu dapat dimanfaatkan sebagai nata. Sedangkan untuk untuk merangsang pertumbuhan dan aktifitas bakteri di dalamnya, ditambah dengan sumber nitrogen, karbon dan mineral.

2.3 Bromelin

Bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino. Bromelin banyak digunakan dalam bidang industri pangan maupun nonpangan seperti industri daging kalengan, minuman bir dan lain-lain (Herdyastuti, 2006). Penggunaan bromelin hampir serupa dengan papain dan ficin. Enzim bromelin dapat diekstraksi dari batang nanas yang disebut stem bromelin atau dapat pula diekstraksi dari buah yang disebut bromelin bras (*fruit bromelain*) dengan nomor klasifikasi EC.3.42.4 dan EC.3.42.5. Kedua enzim ini diperoleh dengan cara ekstraksi buah nanas dan di dalam juice buah tersebut terdapat enzim bromelin yang langsung dapat digunakan ataupun jika akan diawetkan dapat ditambah aseton kemudian dikeringkan (Tanty, 1992) yang dikutip oleh (Hamidi, 2008) .

Protein "*bromelin*" memiliki potensi yang sama dengan "*papain*" yang ditemukan pada pepaya yang dapat mencerna protein sebesar 1000 kali beratnya, sehingga nanas bermanfaat sebagai penghancur lemak. Bromelin dapat membantu melarutkan pembentukan mukus dan juga mempercepat pembuangan lemak melalui ginjal. Bromelin juga memiliki asam sitrat dan malat yang penting dan diperlukan untuk memperbaiki proses pembuangan lemak dan diubah menjadi komponen penting enzim tertentu yang diperlukan dalam metabolisme protein dan karbohidrat (Anonimus², 2004).

2.4 Nata (Bakterial Selulosa)

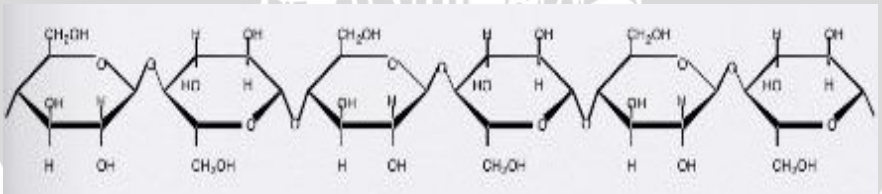
Dalam kajiannya, Prawesthirini (2004) menyebutkan bahwa nata merupakan makanan penyegar yang dapat dibuat dari air kelapa, sari buah, limbah tahu maupun whey yang merupakan hasil samping pembuatan keju atau cairan bening dari susu pecah, yang semuanya merupakan substrat dasar dari medium pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum*.

Dalam kondisi normal, fermentasi selama 8 hari sudah dapat menghasilkan nata dengan ketebalan 1,5-2 cm. Kriteria kualitas nata meliputi yaitu ketebalan rata, bentuk nata yang tidak berlapis, warna putih kekuningan, tidak terdapat koloni jamur dan tidak berlubang. Selain itu, ditunjukkan dengan tidak terdapatnya cairan media yang tersisa dalam loyang (Wijandi dan Illah, 2003).

Komponen terbesar yang terdapat pada nata adalah selulosa merupakan hasil pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* pada permukaan media cair yang asam dan mengandung gula (Mia, 2007).

Menurut Fessenden dan Fessenden (1992), selulosa adalah senyawa organik yang terdiri dari komponen serat yang terbentuk dari dinding sel tumbuhan. Molekul selulosa merupakan polimer lurus dari 1,4- β -D glukosa yang berupa rantai-rantai atau mikrofibril dari D-glukosa sebanyak 14.000 satuan yang terdapat sebagai berkas-berkas terpuntir mirip tali, dimana terikat satu sama lain oleh ikatan hidrogen. Suatu molekul tunggal selulosa merupakan polimer lurus dari 1,4-D glukosa.

Struktur dari selulosa disajikan dalam Gambar 2.1 (Nugroho, 2008) :



Gambar 2.1. Struktur molekul selulosa

2.5 *Actobacter xylinum*

Acetobacter xylinum merupakan bakteri berbentuk batang pendek yang mempunyai panjang 2 mikron dengan permukaan

dinding yang berlendir. Bakteri ini bisa membentuk rantai pendek dengan satuan 6–8 sel. *Acetobacter xylinum* dengan pewarnaan gram menunjukkan gram negatif. Pada kultur sel yang masih muda, individu sel berada sendiri-sendiri dan transparan. Koloni yang sudah tua membentuk lapisan menyerupai gelatin yang kokoh menutupi sel koloninya. Bakteri ini dapat membentuk asam dari glukosa, etil alkohol, serta propil alkohol, dan mempunyai kemampuan mengoksidasi asam asetat menjadi CO_2 dan H_2O . Sifat yang paling menonjol dari bakteri itu adalah memiliki kemampuan untuk mempolimerisasi glukosa menjadi selulosa (Riswanda, 2009).

Menurut Volk dan Wheeler (1993), pertumbuhan bakteri dibagi menjadi 4 fase yaitu fase lag, fase logaritma (eksponensial), fase stasioner dan fase kematian. Pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh kadar nutrisi dalam media, suhu inkubasi, kondisi pH dan aerasi. Fase lag merupakan fase penyesuaian bakteri dengan lingkungan yang baru. Lama fase lag pada bakteri sangat bervariasi. Hal ini tergantung pada komposisi media, pH, suhu, aerasi, jumlah sel pada inokulum awal dan sifat fisiologis dari mikroorganisme pada media sebelumnya.

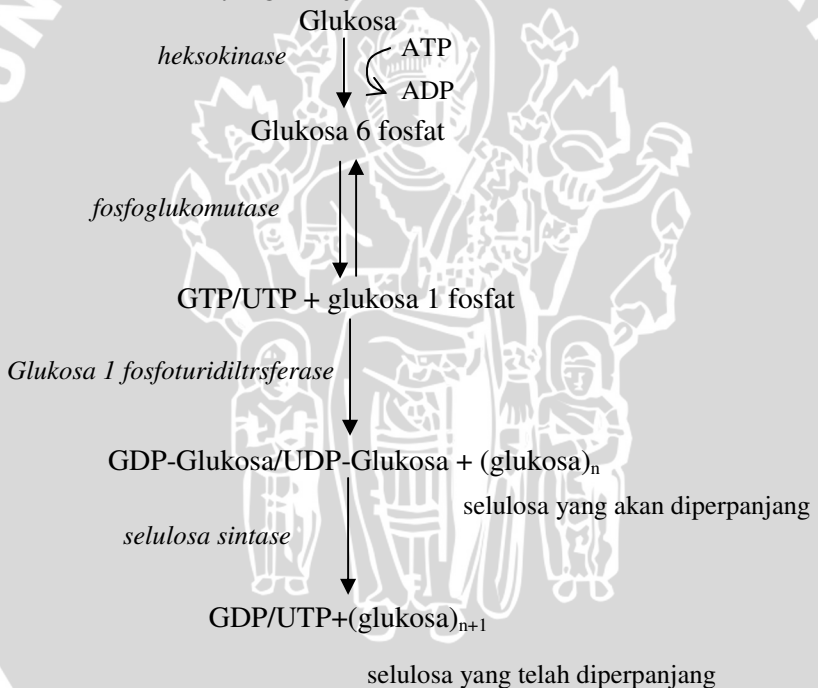
Sedangkan fase eksponensial ditandai dengan terjadinya periode pertumbuhan yang cepat. Setiap sel dalam populasi membelah menjadi dua sel. Ketika derajat pertumbuhan bakteri telah menghasilkan populasi yang maksimum, maka akan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang mati dan jumlah sel yang hidup. Fase stasioner terjadi pada saat laju pertumbuhan bakteri sama dengan laju kematiannya, sehingga jumlah bakteri keseluruhan bakteri akan tetap. Keseimbangan jumlah keseluruhan bakteri ini terjadi karena adanya pengurangan derajat pembelahan sel. Hal ini disebabkan oleh kadar nutrisi yang berkurang dan terjadi akumulasi produk toksik sehingga mengganggu pembelahan sel. Fase stasioner ini dilanjutkan dengan fase kematian yang ditandai dengan peningkatan laju kematian yang melampaui laju pertumbuhan, sehingga secara keseluruhan terjadi penurunan populasi bakteri.

Menurut Fardiaz (1992) yang dilaporkan oleh Nadiyah (2008) menyatakan bahwa *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh pada kisaran pH 3,5 sampai 7,5 dengan pH optimum 4–5. Sedangkan suhu lingkungan yang sesuai dengan pertumbuhan *Acetobacter xylinum* adalah suhu lingkungan yang berkisar antara 20–28°C. Sel-sel akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial yang dibantu oleh

kondisi lingkungan yang sesuai sehingga pada kondisi yang seperti inilah, *Acetobacter xylinum* akan tumbuh dan berkembang biak.

2.6 Polimerisasi Glukosa oleh *Acetobacter xylinum*

Menurut Fardiaz (1988) yang dikutip oleh Agus (1996) menyatakan bahwa proses fermentasi oleh *Acetobacter xylinum* diawali oleh proses katabolisme oligosakarida dan polisakarida menjadi gula-gula sederhana seperti glukosa, fruktosa, dan galaktosa. Kemudian, glukosa difosforilasi dengan bantuan ATP menjadi bentuk glukosa 6-fosfat oleh kerja enzim heksokinase. Sebagian glukosa 6-fosfat yang terbentuk dapat masuk dalam jalur glikolisis untuk menghasilkan energi dan sebagian masuk dalam jalur biosintesis selulosa yang ditunjukkan dalam Gambar 2.2.



Gambar 2.2. Jalur Biosintesis Selulosa

Proses biosintesis selulosa menurut Matoharsono pada tahun 1983 (Agus,1996), bahwa proses pembentukan selulosa dari glukosa terjadi melalui beberapa tahap. Tahap awal adalah reaksi

heksokinase yang melakukan fosforilasi glukosa menjadi glukosa 6-fosfat. Tahap kedua adalah mengubah glukosa 6 fosfat menjadi glukosa 1-fosfat dalam raksi dapat balik dengan katalis enzim fosfoglukomutase. Reaksi selanjutnya adalah pembentukan UDP-glukosa atau GDP-glukosa oleh kerja enzim glukosa 1-fosforidiltrasferase. Kemudian terjadi pemindahan glukosil dari UDP-glukosa atau GDP-glukosa ke ujung molekul selulosa.

2.7 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri

Seperti halnya makhluk hidup, bakteri juga mempertahankan hidupnya dan juga tumbuh. Faktor-faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah sebagai berikut (Anonimus¹,2006):

2.7.1 Nutrisi

Nutrisi diperlukan bakteri sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar yang dibutuhkan meliputi karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya. Kekurangan atau kehilangan unsur-unsur ini dapat mempengaruhi pertumbuhan hingga pada akhirnya bakteri menjadi mati.

2.7.2 Suhu atau temperatur

Pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh suhu. Apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik sehingga pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu turun, maka kecepatan metabolisme akan menurun dan pertumbuhan diperlambat. Sedangkan apabila suhu naik atau turun secara drastis, maka tingkat pertumbuhan akan terhenti sehingga komponen sel menjadi tidak aktif dan rusak yang menyebabkan sehingga sel-sel menjadi mati.

2.7.3 Keasaman atau kebasaan

Pertumbuhan optimum bakteri berada pada kisaran pH antara 5,0-8,0. Di luar kisaran pH tersebut, maka akan menyebabkan kerusakan pada pertumbuhan bakteri.

2.7.4 Ketersediaan oksigen

Berdasarkan kebutuhan bakteri akan oksigen, maka bakteri digolongkan menjadi 4, sebagai berikut :

- 1) Aerobik : hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas
- 2) Anaerob : hanya dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen bebas
- 3) Anaerob fakultatif : dapat tumbuh dengan atau tanpa oksigen
- 4) Mikroaerofilik : dapat tumbuh dengan oksigen dalam jumlah kecil

2.6 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah bahwa pembuatan nata dengan bahan dasar *whey* hasil koagulasi susu dengan bromelin mempunyai pH awal optimum di antara 4–5 dan lama inkubasi optimum di antara 1–13 hari.



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian mengenai penentuan kondisi optimum pembuatan nata (bakterial selulosa) dengan bahan dasar *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin dilaksanakan dalam waktu empat bulan mulai bulan November 2008 sampai dengan Februari 2009 di Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

3.2 Bahan Kimia dan Penelitian

Bahan – bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini : H_2SO_4 98%, CH_3COOH glasial, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaOH .

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah susu yang diperoleh dari KUD susu, Sengkaling Dau, Malang, sementara untuk bahan dasar bromelin adalah nanas, tidak dibedakan umur dan varietasnya, diperoleh dari penjual–penjual eceran di sekitar Universitas Brawijaya dan Pasar Dinoyo.

3.3 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi hot plate digital, seperangkat alat gelas, botol semprot, bola hisap, sendok, pengaduk magnet (stirer), blender, neraca Mettler AE 50, pH-meter (Inolab).

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahap yang terdiri dari :

1. Penyiapan bromelin
2. Pasteurisasi susu
3. Koagulasi susu dengan bromelin
4. Isolasi *whey* dari susu
5. Penentuan pH awal optimum pembuatan nata
6. Penentuan lama inkubasi optimum pembuatan nata
7. Analisa kadar serat kasar

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Penyiapan Bromelin

Sebanyak 4 buah nanas ukuran sedang dikupas hingga bersih, dihilangkan biji matanya dan diambil buah dan hatinya. Kemudian nanas dipotong dadu sekecil mungkin. Setelah itu, potongan nanas diblender hingga halus sehingga diperoleh jus nanas. Lalu jus nanas diperas sehingga diperoleh bromelin yang berupa cairan yang berwarna kuning (Herdyastuti, 2006).

3.5.2 Pasteurisasi Susu

Sebanyak 1 liter susu dimasukkan ke dalam beaker glass 1000 mL, kemudian dipanaskan diatas penangas dan diukur temperatur susu hingga mencapai 70°–80° C dengan sesekali pengadukan. Setelah itu, susu diangkat dari penangas dan dilakukan proses selanjutnya yaitu koagulasi susu dengan bromelin (Irawan, 2006).

3.5.3 Koagulasi susu dengan bromelin

Sebanyak 1 liter susu hasil pasteurisasi ditambahkan bromelin (sari buah nanas) sebanyak 10% dari volume total pada temperatur 65°C. Kemudian campuran susu dengan diaduk pelan hingga homogen. Setelah itu, campuran didiamkan dan ditutup rapat bila telah mencapai temperatur ruang.

3.5.4 Isolasi *whey* dari susu

Susu hasil koagulasi dengan bromelin diambil lapisan bawah (bening) kemudian disaring dengan menggunakan kain. Setelah itu filtrat hasil penyaringan (*whey*) ditampung dan dimasukkan dalam botol plastik yang kemudian disimpan dalam lemari pendingin (Irawan, 2006).

3.5.5 Penentuan pH awal optimum

Media yang siap digunakan untuk pembuatan nata diambil sebanyak 170 mL kemudian ditambah dengan ammonium sulfat sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan beaker glass kemudian diatur pHnya dengan menambahkan asam asetat glasial pada variasi pH 3,5 ; 4,0 ; 4,5 ; 5,0 dan 5,5. Setelah itu, masing–masing media yang telah diatur pHnya, dimasak diatas penangas hingga temperatur kira–kira mencapai 80°C. Kemudian masing–masing dimasukkan ke dalam toples plastik yang telah disterilkan. Setelah dimasukkan toples

plastik, langsung ditutup dan ditunggu sampai dingin. Setelah mencapai temperatur ruang, maka starter *Acetobacter xylinum* dimasukkan sebanyak 30 mL dan digoyang pelan. Lalu, toples ditutup dengan kertas dan diletakkan dalam tempat yang gelap. Pada hari keenam, nata diambil dari toples, lalu ditiriskan kurang lebih 10 menit. Setelah itu, dilakukan pengukuran tebal yang dilakukan dengan jangka sorong pada tiga tempat yang berbeda kemudian dirata-rata (Wijandi dan Illah, 2003).

3.5.6 Penentuan lama inkubasi optimum

Penentuan lama waktu inkubasi optimum dilakukan setelah diperoleh pH optimum. Pembuatan nata dilakukan pada pH 4,5 (pH optimum) dengan variasi lama inkubasi (1, 3, 5, 7, 9, 11, dan 13) hari. Media yang telah siap ditambah dengan ammonium sulfat sebanyak 0,5 gram kemudian dimasak pada penangas sampai kira-kira temperatur mencapai 80°C. Setelah itu dimasukkan pada toples plastik dan ditutup sampai dingin mencapai suhu kamar. Lalu masing-masing media ditambah dengan starter *Acetobacter xylinum* sebanyak 30 mL dan digoyang pelan. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 13 hari yang meliputi dilakukan pengukuran tebal nata dengan menggunakan jangka sorong pada tiga tempat yang berbeda kemudian dirata-rata (Wijandi dan Illah, 2003).

3.5.7 Analisis Kadar Serat Kasar

Analisa kuantitatif produk nata meliputi analisa kadar serat kasar. Sampel nata ditimbang kurang lebih 2 gram yang kemudian dihaluskan dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 mL. Setelah itu, ditambah dengan 200 mL larutan H_2SO_4 0,63 M dan batu didih secukupnya. Kemudian direfluks selama 30 menit. Lalu disaring dengan kertas saring dan residu dicuci dengan air mendidih sampai air cucian tidak bersifat asam lagi. Residu yang tertinggal pada kertas saring dipindah ke Erlenmeyer dan sisanya dicuci dengan 200 mL larutan NaOH 0,313M sampai semua residu masuk ke dalam labu. Setelah itu dilakukan refluks lagi selama 30 menit, lalu disaring dengan kertas saring yang telah ditimbang beratnya. Selanjutnya dicuci lagi dengan air mendidih. Kertas saring yang berisi residu dikeringkan dalam oven hingga kering pada suhu 105°C, didinginkan dalam desikator dan ditimbang sampai beratnya mencapai konstan (Sudarmadji, 1997).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Penentuan kondisi optimum pembentukan nata

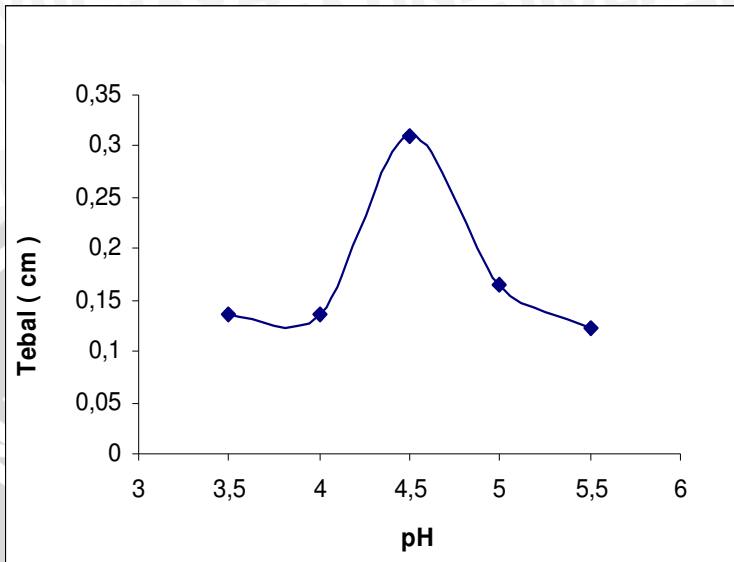
4.1.1 pH awal Optimum

Penentuan pH awal optimum pembentukan nata dilakukan melalui proses fermentasi pada variasi pH 3,5 ; 4,0 ; 4,5 ; 5,0 ; 5,5. pH awal optimum pembentukan nata ditunjukkan dengan terbentuknya nata yang memiliki tebal maksimum diantara variasi pH yang lain. Hasil penelitian tentang pengaruh pH awal terhadap tebal nata disajikan dalam Tabel 4.1 dan Gambar 4.1

Tabel 4.1. Tabel Nata terhadap Faktor pH Awal

pH	Tebal nata rata-rata (cm)
3,5	0,136
4,0	0,135
4,5	0,309
5,0	0,165
5,5	0,123

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.1 tampak bahwa pH media berpengaruh terhadap ketebalan nata yang ditunjukkan dengan kenaikan dan penurunan tebal nata. Dari analisis data dengan menggunakan RAL, menunjukkan bahwa pada taraf nyata 5 % didapatkan nilai F hitung memiliki nilai lebih besar dari F tabel. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan variasi pH awal berpengaruh nyata terhadap tebal nata yang dihasilkan. Berdasarkan uji lanjut BNT (Lampiran 2) dapat diketahui bahwa pada taraf 5 % perlakuan dengan variasi pH 3,5 sampai 4,0 memberi pengaruh yang sama. Demikian halnya dengan perlakuan dengan variasi pH 5,0 sampai dengan 5,5 juga memberi pengaruh yang sama.

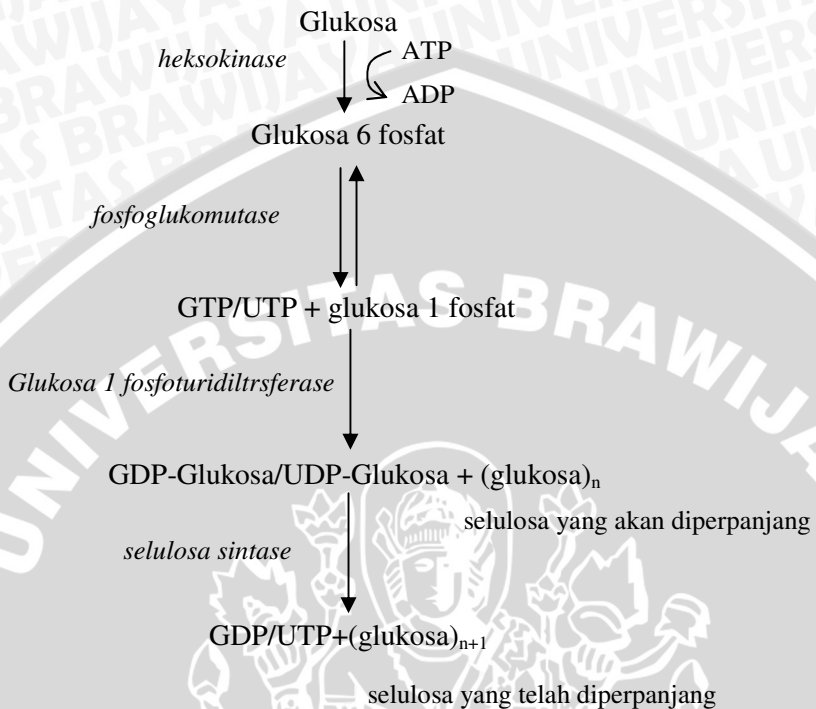


Gambar 4.1 Grafik pengaruh pH terhadap tebal nata

Menurut Fardiaz (1992) yang dikutip oleh Anastasia dan Eddy (2008) melaporkan bahwa *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh pada kisaran pH 3,5 sampai 7,5 dengan pH optimum 4-5.

Berdasarkan Gambar 4.1 menunjukkan bahwa tebal nata yang dihasilkan dalam pada pH 4,5 adalah paling tinggi di antara variasi pH lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa pH optimum pembentukan nata dengan medium *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin terjadi pada pH 4,5.

Nata yang terbentuk merupakan hasil biosintesis selulosa dari glukosa. Pembentukan selulosa dari glukosa melalui beberapa tahap yang terdiri dari glikolisis dan sintesis selulosa oleh enzim selulosa sintase yang dihasilkan oleh *Acetobacter xylinum*. Proses biosintesis selulosa secara keseluruhan ditunjukkan dalam Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Jalur Biosintesis Selulosa Pembentukan Nata

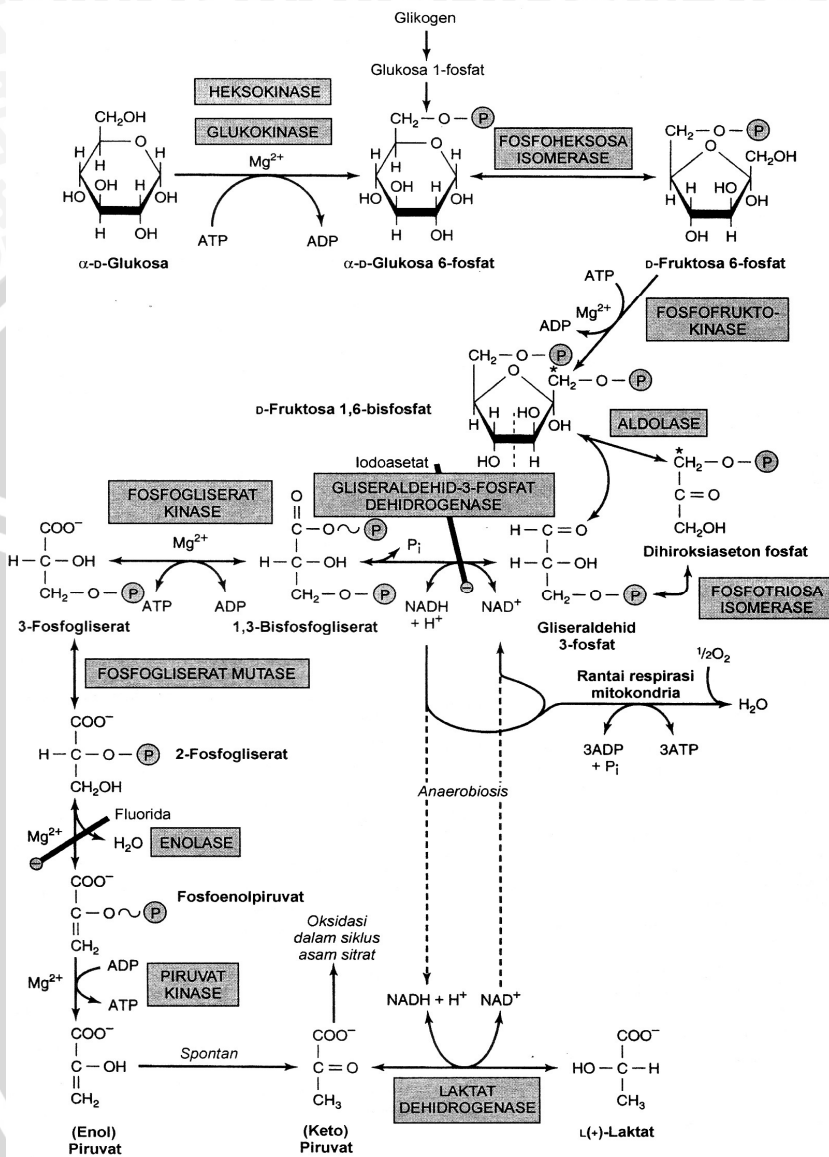
Tahap awal dalam biosintesis selulosa adalah glikolisis. Glikolisis yang terjadi dalam biosintesis selulosa selama fermentasi akan menghasilkan energi yang kemudian digunakan untuk berbagai aktivitas hidup *Acetobacter xylinum* (Gambar 4.3). Setelah melalui tahap glikolisis, maka *Acetobacter xylinum* memperoleh energi yang kemudian digunakan dalam proses biosintesis selulosa selanjutnya yaitu pembentukan selulosa. Menurut Piluharto (2003), glukosa yang berperan dalam pembentukan selulosa adalah glukosa dalam bentuk β sehingga semua glukosa yang ada dalam bentuk α akan diubah dalam bentuk β melalui enzim isomerase yang berada pada bakteri *Acetobacter xylinum*. Tahap berikutnya glukosa berikatan dengan glukosa yang lain melalui ikatan 1,4 β -glikosida. Tahap terakhir adalah tahap polimerisasi yaitu pembentukan selulosa. Polimerisasi ini terjadi melalui enzim polimerase yang ada pada bakteri *Acetobacter xylinum*. Reaksi pembentukan selulosa ditunjukkan pada Gambar 4.4

Pada jalur metabolisme glikolisis, melibatkan beberapa enzim dalam setiap tahapan. Adapun enzim yang terlibat dalam proses ini adalah heksokinase, glukokinase, fosfoheksosa isomerase, fosfofruktokinase, aldolase, gliseraldehid 3-fosfat dehidrogenase, fosfoglisarat kinase, fosfotriosa isomerase, fosfoglisarat mutase, enolase, piruvat kinase, dan laktat dehidrogenase. Pada kerja beberapa enzim ini, melibatkan NAD^+ yang kemudian akan diubah membentuk $\text{NADH} + \text{H}^+$. H^+ yang dihasilkan menyebabkan kondisi lingkungan semakin asam.

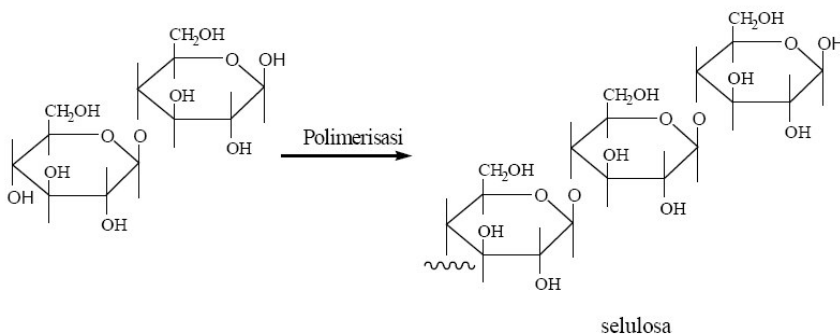
Menurut Lehninger (1992) menyatakan bahwa aktivitas pH enzim menggambarkan pH pada saat gugus pemberi atau penerima proton yang penting pada sisi katalitik enzim berada dalam tingkat ionisasi yang diinginkan. Pada pH yang terlalu rendah, menyebabkan aktivitas enzim tidak maksimal.

Hal ini dapat dilihat pada pH dibawah pH optimum pembentukan nata yaitu 3,5 dan 4,0 tampak bahwa nata yang terbentuk lebih tipis daripada pH 4,5. Hal ini disebabkan karena pH lingkungan yang terlalu rendah sehingga menyebabkan aktivitas enzim–enzim kurang maksimal. Kondisi ini menyebabkan metabolisme kurang berjalan dengan baik dan energi yang dihasilkan juga tidak maksimal.

Selain berpengaruh pada glikolisis, perubahan pH yang semakin rendah juga berpengaruh pada enzim pembentuk selulosa yaitu selulosa sintase. pH yang terlalu rendah, menyebabkan enzim ini tidak bisa bekerja secara maksimal untuk membentuk selulosa karena aktivitas enzim yang menurun. Di samping, aktivitas enzim yang menurun, hal ini disebabkan juga karena energi yang dihasilkan dari glikolisis tidak terlalu banyak sehingga menyebabkan beberapa bakteri *Acetobacter xylinum* menjadi mati. Hanya bakteri yang mampu bertahan hidup yang mampu menghasilkan enzim selulosa sintase untuk membentuk selulosa. Sedikitnya bakteri ini menyebabkan hanya sedikit pula enzim selulosa sintase yang diproduksi sehingga selulosa yang terbentuk hanya sedikit dan nata yang dihasilkan tidak terlalu tebal.



Gambar 4.3. Jalur Glikolisis (Murray, 2003)



Gambar 4.4. Reaksi Polimerisasi Selulosa

Pada pH optimum yaitu 4,5 merupakan pH yang dapat menciptakan lingkungan yang sesuai untuk aktivitas enzim baik pada proses glikolisis maupun pada proses pembentukan selulosa oleh selulosa sintase. Hal ini sangat berpengaruh pada energi yang dihasilkan dari proses metabolisme *Acetobacter xylinum*. Aktivitas enzim yang mampu bekerja secara maksimal ini, menyebabkan selulosa yang dihasilkan juga semakin banyak sehingga nata yang terbentuk cukup tebal. Hal ini didukung dengan pernyataan Fardiaz (1992) yang dikutip oleh Nadiyah dkk (2005) melaporkan bahwa sel-sel akan tumbuh dan membelah diri secara eksponensial yang dibantu oleh kondisi lingkungan yang sesuai.

Setelah mencapai pH optimum, nata yang terbentuk mengalami penurunan tebal. Pada pH tersebut tebal nata yang dihasilkan berturut-turut adalah 0,165 dan 0,123 cm. Menurut Agus (1996), pembentukan nata yang semakin menurun setelah pH optimum disebabkan karena menurunnya kemudahan hidrolisa laktose oleh enzim laktase.

Menurunnya kemudahan hidrolisa laktose ini menyebabkan glukosa yang dihasilkan sedikit. Sementara, pada pembentukan nata ini dibutuhkan glukosa yang cukup banyak untuk glikolisis dalam menghasilkan energi dan juga proses menghasilkan selulosa. Hal ini menyebabkan enzim kurang bisa bekerja secara maksimal karena substrat yang tersedia hanya sedikit sehingga selulosa yang dihasilkan juga tidak banyak. Dengan demikian, pada pH di atas pH optimum nata yang terbentuk tidak begitu tebal apabila dibandingkan dengan pH 4,5.

4.1.2 Lama Inkubasi Optimum

Penentuan lama inkubasi pada pembentukan nata melalui proses fermentasi dilakukan pada kondisi pH optimum yaitu 4,5 dengan variasi waktu 1, 3, 5, 7, 9, 11, dan 13 hari. Pada penelitian ini, lama inkubasi optimum adalah lama dihasilkan nata dengan ketebalan yang paling tinggi ketika mencapai kondisi konstan atau tidak mengalami kenaikan secara signifikan. Hasil penelitian tentang pengaruh lama inkubasi terhadap tebal nata disajikan dalam Tabel 4.2 dan Gambar 4.5.

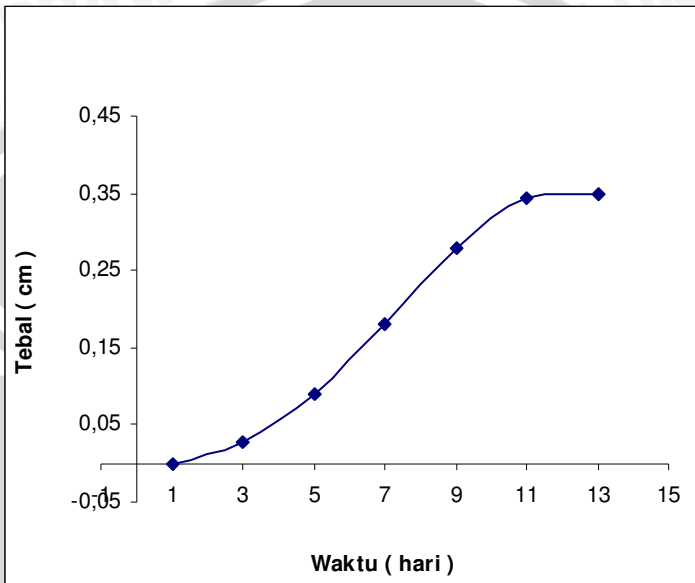
Tabel 4.2. Tabel Nata terhadap Faktor Lama Inkubasi

Lama Inkubasi (hari)	Tebal rata – rata nata (cm)
1	0,000
3	0,028
5	0,091
7	0,180
9	0,278
11	0,343
13	0,349

Berdasarkan grafik yang disajikan pada Gambar 4.5 tampak bahwa lama inkubasi berpengaruh terhadap tebal nata. Hal ini ditunjukkan dengan kenaikan tebal nata dan semakin lama mencapai kondisi konstan. Dari analisis data dengan menggunakan RAL, menunjukkan bahwa pada taraf nyata 1 % didapatkan nilai F hitung lebih besar dari F tabel.

Tampak seperti pada Gambar 4.5 terlihat grafik ketebalan nata yang menunjukkan seperti halnya kurva pertumbuhan bakteri. Hal ini diduga pengaruh lama inkubasi mengikuti kurva pertumbuhan bakteri, dalam hal ini *Acetobacter xylinum*. Menurut Schlegel (1994), suatu bakteri yang ditanam dalam suatu media tumbuh, maka bakteri akan tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum sehingga pertumbuhan menjadi terbatas. Pertumbuhan bakteri dinyatakan dalam grafik logaritma jumlah sel hidup terhadap waktu. Kurva

pertumbuhan ini terdiri dari beberapa fase pertumbuhan yang muncul secara teratur.



Gambar 4.5 Grafik pengaruh lama inkubasi terhadap tebal nata

Pada hari ke-1 sampai dengan hari ke-3 dimungkinkan merupakan fase adaptasi. Pada fase ini *Acetobacter xylinum* dalam proses menyesuaikan dengan lingkungan baru yaitu media fermentasi. Hal ini terlihat dengan dihasilkan nata dengan ketebalan yang masih rendah karena *Acetobacter xylinum* belum berkembang biak pada fase ini. Energi yang diperoleh dari glikolisis masih terbatas digunakan sebagai sumber energi hidupnya. Menurut Schlegel (1994), fase lag merupakan fase dimana bakteri harus menyesuaikan diri terhadap kondisi pertumbuhan yang baru meliputi sintesis RNA, ribosom, dan enzim, sedangkan untuk sumber energi sendiri, ketika berbeda dengan kondisi awal, maka akan melakukan adaptasi dengan cara sintesis enzim–enzim yang diperlukan.

Pada hari selanjutnya, setelah hari ke-3 nata yang dihasilkan mengalami kenaikan ketebalan. Berdasarkan Gambar 4.2 tampak kurva dengan garis yang semakin ke atas. Kenaikan tebal nata yang cukup signifikan berhenti sampai pada hari ke-11. Hal ini terlihat

kenaikan mulai hari ke-11 sampai dengan dengan hari ke-13 tidak begitu tajam. Hal ini dimungkinkan setelah hari ke-3 sampai dengan hari ke-11 merupakan fase logaritmik (eksponensial) dimana *Acetobacter xylinum* telah berkembang biak cukup banyak yang diikuti dengan menghasilkan metabolit yang berupa enzim selulosa sintase. Selain itu, pada fase ini dimungkinkan enzim telah bekerja secara optimal setelah melalui tahap adaptasi dengan lingkungan barunya sehingga selulosa yang diproduksi cukup banyak dan dapat membentuk nata yang cukup tebal.

Secara umum, fase eksponensial dicapai antara 1-5 hari. Pada fase pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dalam pembuatan nata ini tidak diperlukan fase adaptasi karena bakteri telah ditumbuhkan terlebih dahulu pada substrat (pada umumnya adalah air kelapa) yang kemudian disebut sebagai starter. Sedangkan pada penelitian ini, bakteri mengalami fase adaptasi. Hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan substrat yang digunakan pada starter dengan substrat untuk media fermentasi yang berupa *whey* sehingga dibutuhkan waktu untuk adaptasi diantara keduanya.

Pada fase eksponensial ini, bakteri mengeluarkan enzim ekstraseluler polimerase sebanyak-banyaknya untuk menyusun polimer glukosa menjadi selulosa (matrik nata). Fase ini sangat menentukan kecepatan suatu strain *Acetobacter xylinum* dalam membentuk nata (Anonimus¹, 2008).

Sedangkan untuk setelah hari ke-11 menuju hari ke-13 pertambahan tebal nata tidak meningkat dengan signifikan seperti halnya pertumbuhan nata antara hari ke-3 sampai dengan hari ke-11. Pada fase ini, *Acetobacter xylinum* mulai mengalami fase stationer (pertumbuhan tetap). Fase pertumbuhan lambat terjadi karena nutrisi telah berkurang, terdapat metabolit yang bersifat racun yang menghambat pertumbuhan bakteri dan umur sel sudah tua. Pada fase ini pertumbuhan tidak stabil, tetapi jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak dibanding jumlah sel mati. Fase pertumbuhan tetap terjadi keseimbangan antara sel yang tumbuh dan yang mati (Anonimus¹, 2008).

Pada fase ini, nutrisi yang terdapat pada media fermentasi mulai berkurang sehingga glukosa yang seharusnya diubah oleh enzim sangat terbatas. Hal ini menyebabkan enzim melakukan aktivitasnya

tidak menggunakan glukosa tetapi menggunakan metabolit lainnya yang kemudian membentuk racun dalam media fermentasi. Kondisi ini menyebabkan beberapa *Acetobacter xylinum* tidak mampu bertahan hidup sehingga hanya sedikit bakteri saja yang bisa melakukan metabolisme untuk menghasilkan selulosa.

Berdasarkan uji lanjut BNT (Lampiran 3) dapat diketahui bahwa pada taraf 1 % perlakuan dengan variasi lama inkubasi (1, 3, 5, 7, 9, 11, dan 13) hari memberikan pengaruh yang sangat nyata terhadap pembentukan nata. Hasil analisis menunjukkan bahwa lama inkubasi optimum untuk pembentukan nata adalah 11 hari.

Semakin lama inkubasi, nata yang terbentuk semakin tebal. Hal ini disebabkan karena *Acetobacter xylinum* berkembang biak sampai pada kondisi tertentu. Seiring dengan berkembang biaknya *Acetobacter xylinum*, maka semakin banyak pula hasil sekresi yang dikeluarkan dari hasil metabolismenya. Dengan demikian, akan terbentuk lapisan-lapisan hasil sekresi yang menumpuk sehingga semakin lama terbentuk nata yang semakin tebal.

4.2 Kadar Serat Kasar

Serat kasar merupakan hasil perombakan gula pada medium fermentasi oleh aktivitas *Acetobacter xylinum* (Hidayat dkk., 2003) yang dikutip oleh Anastasia dan Eddy (2008). Pada penelitian ini, kadar serat kasar nata ditentukan dengan pengukuran secara gravimetri pada kondisi optimum. Data yang diperoleh disajikan pada Tabel 4.3

Menurut Mandel (2004) oleh Nadiyah dkk (2005), bakteri *Acetobacter xylinum* yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung gula akan menggunakan sebagian glukosa untuk aktivitas metabolisme dan 19% gula menjadi selulosa. Sedangkan pada penelitian ini, kadar serat kasar nata pada kondisi optimum didapatkan sebesar 2,3 % dengan kandungan laktosa dalam medium sebesar 4,59 %. Jumlah kadar serat pada hasil penelitian lebih besar daripada pernyataan oleh Mandel (2004).

Tabel 4.3. Kadar serat kasar pada kondisi optimum

Analisa	Kadar	Kadar Nata de Pina (Agus, 1996)
Kandungan dalam medium	Laktosa 4,59 %	Sukrosa 9,45 %
Kadar Serat Kasar Nata	2,3 %	4,13 %

Hal ini dapat dibandingkan dengan kadar serat kasar nata de pina yang mempunyai kadar serat kasar sebesar 4,13 % dengan kandungan karbohidrat dalam medium sebesar 9,54 %. Kedua hasil penelitian ini, mempunyai kadar serat kasar yang lebih besar daripada pernyataan Mandel (2004). Kadar serat kasar nata dengan bahan dasar whey hasil koagulasi susu oleh bromelin sebanding dengan kadar serat kasar dari nata de pina.

Menurut Nadiyah dkk (2005) semakin banyak nutrien (karbohidrat) dalam medium maka semakin besar pula kemampuan *Acetobacter xylinum* menghasilkan metabolit sekunder, yang berupa jalinan serabut selulosa yang termasuk serat kasar. Banyaknya kandungan nutrien pada medium ini berpengaruh terhadap kadar serat yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena selama proses fermentasi, nutrien terus menerus dipakai oleh *Acetobacter xylinum* untuk membentuk produk metabolisme.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan, maka dapat disimpulkan bahwa kondisi optimum pembuatan nata dari *whey* hasil samping koagulasi susu dengan bromelin berada pada pH 4,5 dan lama inkubasi selama 11 hari dengan tebal nata 0,343 cm. Kadar serat kasar nata yang diperoleh pada kondisi optimum sebesar 2,3 %.

5.2 Saran

Untuk mengoptimalkan produksi nata dari bahan dasar *whey* hasil koagulasi susu dengan bromelin disarankan ada penelitian lebih lanjut mengenai faktor-faktor lain yang mempengaruhi terhadap proses pembentukan nata, salah satunya adalah penambahan sumber karbon yaitu glukosa dalam media fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abubakar dan Ilyas,M. 2005. **Mutu Susu Karamelisasi Asal Susu Pecah Selama Penyimpanan**. Seminar nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Bogor
- Agus, Muhamad. 1996. **Pengaruh pH awal dan Jumlah Inokulum Acetobacter xylinum pada Pembuatan Nata dari Sari Buah Nanas (Ananas comosus (L) Merr)**. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengtahuan Alam. Unibraw. Malang
- Anastasia, Nadia dan Eddy Afrianto. 2008. **Mutu Nata De SeaWeed dalam Berbagai Konsentrasi Sari Jeruk Nipis**. Seminar Nasional Sains dan Teknologi-II 2008, Universitas Lampung
- Anonimus¹. 2008. **Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Bakteri**. <http://rachdie.blogspot.com/2006/10/14/faktor-yang-mempengaruhi-pertumbuhan-mikroba>, diakses tanggal 28 Desember 2008
- Anonimus².2008.**Manfaat Nanas bagi Kesehatan** .Buletin teknopro Edisi Juli 008. Diakses tanggal 28 Desember 2008
- Clark, Jr. WS. 1992. **Whey : Composition, Properties, Processing and Technology**. Encyclopedia of Food Science and Technology. Vol 4. John Willey and Sons.Inc. New York
- Dewan Standardisasi Nasional. 1998. **SNI Susu Segar** (SNI 01-3141-1998.1998). Dewan Standardisasi Nasional, Jakarta
- Fanny. 2008. **Tahukan Anda Apa itu Whey?**. Jurnal Halal LP POM MUI
- Fessenden dan Fessenden. 1982. **Kimia Organik**. Edisi ketiga. Erlangga. Jakarta
- Fox, Patrick F., Cogan, Timothy M., Guinee, Timothy P., McSweeney, Paul L.H. 2000. **Fundamentals of Cheese Science**. Aspen Publisher Inc. Maryland

Grahadyarini, Lukita. 2004. **Ipah Datipah dan Pemanfaatan Limbah Susu**. Harian Kompas

Hamidi, Hermawan. 2008. **Pengaruh Enzim Bromelin pada Proses Pembuatan Kecap Keong Sawah terhadap Kadar Protein Kecap Keong Sawah**. Universitas Negeri Semarang

Irawan, Hendrix. 2006. **Kualitas Nata de Milko dengan Berbagai Sumber Nitrogen**. Skripsi. Fakultas Peternakan. Unibraw. Malang

Jenie, B.S.L dan W.P. Rahayu. 1993. **Penanganan Limbah Industri Pangan**. Penerbit Kanisius. Yogyakarta

Khomsan, Ali. 2008. **Susu Minuman Bergizi untuk Peningkatan Kualitas SDM**. Pacific Link

Lehninger. 1982. **Dasar-dasar Biokimia**. Jilid 1, Erlangga. Jakarta

Mia, Prokarimah. 2007. _____. <http://warintek.progressio.or.id>. Diakses tanggal 28 desember 2008

Misgiyarta. 2009. **Fermentasi Nata dengan Substrat Limbah Buah Nanas dan Air Kelapa**. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian

Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW, 2003, **Biokimia Harper**, Edisi XXV, Penerjemah Hartono Andry, Jakarta: EGC

Nadiyah, Krisdianto, Aulia Ajizah. 2005. **Kemampuan bakteri *Acetobacter xylinum* Mengubah Karbohidrat pada Limbah Padi (Bakatul) menjadi Selulosa**. BIOSCIENTIAE Volume 2, Nomor 2, Halaman 37-47

Nugroho, Heru Santoso Wahito. _____. **Metabolisme Karbohidrat**. Bahan Kuliah Biokimia bagi Mahasiswa D III Kebidanan

- Nuniek Herdyastuti. 2006. **Isolasi Dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin dari Batang Nanas (Ananas Comusus L.Merr)**. <http://journal.discoveryindonesia.com/index.php/hayati/article/view/13/14>. Diakses tanggal 12 April 2009
- Pambayun, R. 2002. **Teknologi Pengolahan Nata de Coco**. Kanisius. Yogyakarta
- Piluharto, Bambang. _____. **Kajian Sifat Fisik Film Tipis Nata de Coco Sebagai Membran Ultrafiltrasi**. Jurusan Kimia. Fakultas MIPA. Universitas Jember
- Prawesthirini, Soetji. 2002. **Biofermentasi Bakteri *Acetobacter xylinum* pada Substrat Whey dengan Penambahan Gula**. Faculty of Veterinary Airlangga University. Surabaya
- Riswanda, Ferry. 2009. ***Acetobacter xylinum***. <http://waluhhangit.blogspot.com/2009/03/acetobacter-xylinum.html>, diakses tanggal 28 Desember 2008
- Saleh, Eniza. 2004. **Dasar Pengolahan Susu dan Hasil Ikutan Ternak**. Program Studi Ternak. Fakultas Peternakan. Universitas Sumatra Utara
- Schlegel, Hans G. 1994. **Mikrobiologi Umum**. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta
- Sutriah, Komar dan Ahmad Sjahriza. 2000. **Optimalisasi Kondisi Fermentasi Nata De Soya untuk Industri Nata “Segar Sari Mandiri” di Ciheuleut Bogor dan Karakterisasi Potensinya sebagai Biomembran**. Vol.II.No.2
- The Vegetarian Society. 2008. **Cheese and Rennet**. The Vegetarian Society of the United Kingdom
- Volk, W.A. dan Wheeler, M.F. 1993. **Mikrobiologi Dasar**. Jilid I, Ed ke-5, Erlangga. Jakarta

Wijandi, Soesarsono dan Illah Saillah. 2003. **Memproduksi Nata de Coco**. Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan

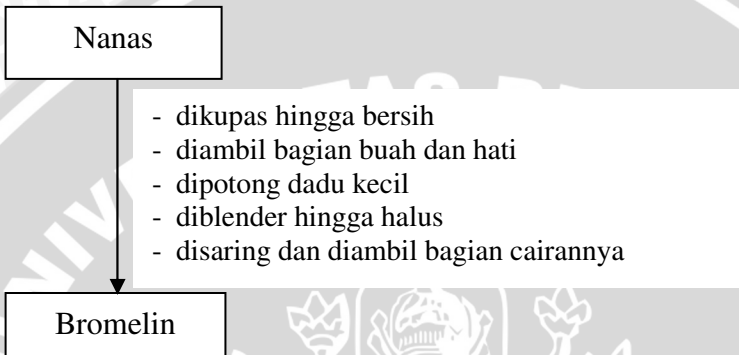
Winarno, F. G. 1986. **Enzim Pangan**. Penerbit Gramedia Pustaka Utama. Jakarta

Zakiah. 2008. **Keju Tua**. http://fathinajwa.multiply.com/journal/item/2/keju_tua.diakses pada tanggal 2 Januari 2008

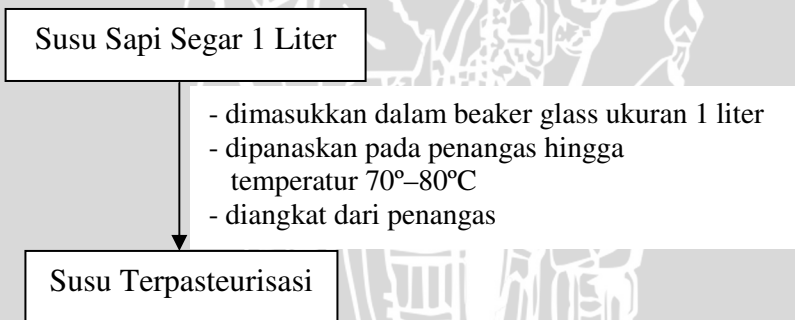


LAMPIRAN

Lampiran 1 : Diagram Kerja Penelitian L 1.1 Penyiapan bromelin



L.1.2 Pasterisasi susu



L.1.3 Proses koagulasi susu dengan bromelin

Susu Terpasteurisasi 450 mL

- ditambah bromelin 50 mL pada temperatur 65° C
- diaduk pelan hingga homogen
- didiamkan dan ditutup bila telah dingin

Susu Hasil Koagulasi

L.1.4 Isolasi *whey* dari susu

Susu Hasil Koagulasi

- diambil cairan bening bagian bawah dengan pipet ukur
- ditampung dan dimasukkan dalam botol plastik
- disimpan dalam lemari pendingin

Cairan Bening (*Whey*)

L.1.5 Penentuan pH optimum pembuatan nata

170 mL *whey*

- dimasukkan dalam beaker glass ukuran 600 mL
- ditambah 0,5 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- diaduk hingga homogen
- diatur pHnya dengan variasi 3,5 ; 4 ; 4,5 ; 5 ; 5,5
- dipanaskan hingga mendidih
- dimasukkan toples yang telah disterilkan
- didinginkan hingga temperatur ruang
- ditambah 30 mL stater nata
- diaduk hingga homogen dan ditutup rapat dengan kertas
- diinkubasi selama 6 hari

Nata

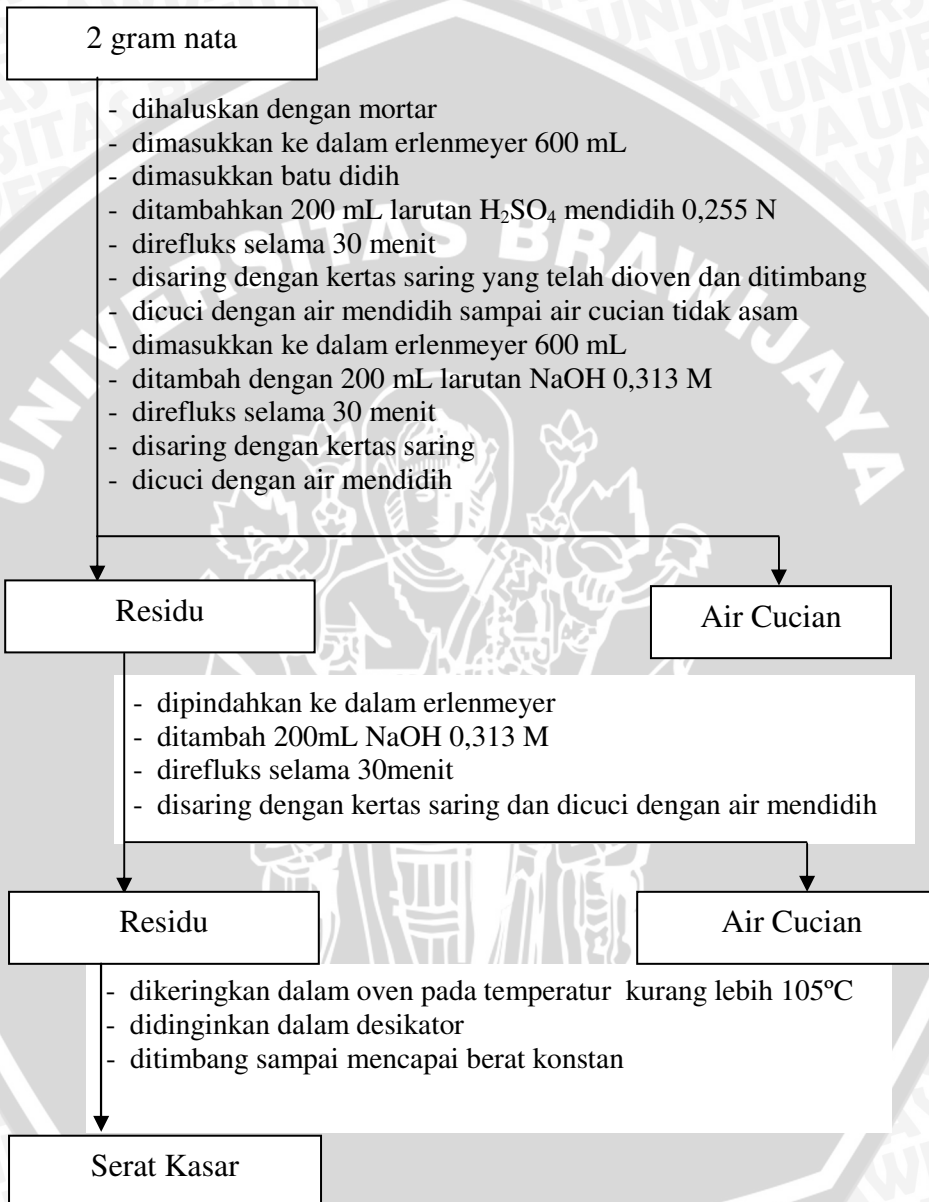
L.1.6 Penentuan lama inkubasi optimum pembuatan nata

170 mL *whey*

- dimasukkan dalam beaker glass ukuran 600 mL
- ditambah 0,5 gram $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- diaduk hingga homogen
- diatur pada pH optimum
- dipanaskan hingga mendidih
- dimasukkan toples yang telah disterilkan
- didinginkan hingga temperatur ruang
- ditambah 30 mL starter nata
- diaduk hingga homogen dan ditutup rapat dengan kertas
- diinkubasi pada variasi (1,3,5,7,9,11 dan 13) hari

Nata

L.1.7 Analisa kadar serat kasar



Lampiran 2 : Analisa Ragam pH terhadap Tebal Nata

Tabel L.2.1. Data pengaruh pH

pH	Ulangan tebal nata (cm)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
3,5	0,054	0,182	0,172	0,408	0,136
4,0	0,168	0,178	0,058	0,404	0,135
4,5	0,270	0,375	0,283	0,928	0,309
5,0	0,172	0,142	0,055	0,369	0,123
5,5	0,170	0,173	0,153	0,496	0,165
Jumlah				2,605	

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor koreksi (FK)} &= \frac{(\text{Total Ulangan})^2}{\text{Jumlah Seluruh Observasi}} \\
 &= \frac{(2,605)^2}{15} = \frac{6,786}{15} \\
 &= 0,452
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= (0,054)^2 + (0,182)^2 + (0,172)^2 \\
 &\quad + \dots + (0,170)^2 + (0,173)^2 + (0,153)^2 \\
 &\quad - \text{FK} \\
 &= 0,558 - 0,452 \\
 &= 0,106
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\sum (\text{jumlah hasil perlakuan})^2}{n} - \text{FK} \\
 &= \frac{(0,408)^2 + (0,404)^2 + \dots + (0,496)^2}{3} - 0,452 \\
 &= \frac{1,573}{3} - 0,452 \\
 &= 0,072
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat galat (JKG)} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 0,106 - 0,072 \\ &= 0,034\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Total Perlakuan(KTP)} &= \frac{\text{JKPerlakuan}}{\text{DBPerlakuan}} = \frac{0,072}{4} \\ &= 0,018\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Total Galat (KTG)} &= \frac{\text{JKGalat}}{\text{DBGalat}} = \frac{0,034}{10} \\ &= 3,4 \times 10^{-3}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung} &= \frac{\text{KTPerlakuan}}{\text{KTGalat}} = \frac{0,018}{3,4 \times 10^{-3}} \\ &= 5,294\end{aligned}$$

$$\text{F Tabel } (v_1, v_2) = (4, 10) \text{ pada taraf nyata } 5 \% = 3,48$$

Tabel L.2.2. Analisa sidik ragam satu arah penentuan pH

Sumber keragaman	db	JK	KT	F	
				Hitung	Tabel
Perlakuan	4	0,072	0,018	5,294	3,48
Galat	10	0,034	$3,4 \times 10^{-3}$		
Total	14	0,106	0,0214		

F hitung > F tabel maka terdapat perbedaan yang nyata dalam perlakuan pH sehingga dilakukan pengujian lebih lanjut dengan uji BNT.

$$BNT_{(0,05)} = t_{(0,05/2,dbG)} \sqrt{\frac{2KTG}{n}} = 2,228 \times \sqrt{\frac{2 \times 3,4 \times 10^{-3}}{3}}$$

$$= 2,228 \times 0,048$$

$$= 0,106$$

Tabel L.2.3. Selisih rerata antar perlakuan pH

pH	Rerata tebal nata	pH				
		5,0	4,0	3,5	5,5	4,5
		Rerata tebal nata				
		0,123	0,135	0,136	0,165	0,309
5,0	0,123	-				
4,0	0,135	0,012	-			
3,5	0,136	0,013	0,001	-		
5,5	0,165	0,042	0,030	0,029	-	
4,5	0,309	0,186*	0,174*	0,173*	0,144*	-

(*) = berbeda nyata pada taraf 5%

Tabel L.2.4. Hasil analisis BNT 5% pH awal media fermentasi terhadap tebal nata

pH	Tebal nata rata-rata (cm)	Notasi
3,5	0,136	a
4,0	0,135	a
4,5	0,309	b
5,0	0,165	a
5,5	0,123	a

Nilai rata-rata dengan notasi yang sama menunjukkan tidak beda nyata dengan uji BNT 5%

Lampiran 3 : Analisa Ragam Lama Inkubasi terhadap Tebal Nata

Tabel L.3.1. Data pengaruh lama inkubasi

Lama Inkubasi (hari)	Ulangan tebal nata (cm)			Total	Rata-rata
	1	2	3		
1	0	0	0	0	0
3	0,037	0,023	0,023	0,083	0,028
5	0,092	0,095	0,087	0,274	0,091
7	0,163	0,175	0,202	0,540	0,180
9	0,252	0,293	0,288	0,833	0,278
11	0,345	0,325	0,360	1,030	0,343
13	0,353	0,360	0,334	1,047	0,349
Jumlah				3,807	

$$\begin{aligned} \text{Faktor koreksi (FK)} &= \frac{(\text{Total Ulangan})^2}{\text{Jumlah Seluruh Observasi}} \\ &= \frac{(3,807)^2}{21} = \frac{14,493}{21} \\ &= 0,690 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Total (JKT)} &= (0)^2 + (0)^2 + (0)^2 + \dots + (0,353)^2 \\ &\quad + (0,360)^2 + (0,334)^2 - \text{FK} \\ &= 1,078 - 0,690 \\ &= 0,388 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Jumlah Kuadrat Perlakuan} &= \frac{\sum (\text{jumlah hasil perlakuan})^2}{n} - \text{FK} \\ &= \frac{(0)^2 + (0,083)^2 + \dots + (1,047)^2}{3} - 0,690 \\ &= \frac{3,223}{3} - 0,690 \\ &= 0,384 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Jumlah Kuadrat Galat (JKG)} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\ &= 0,388 - 0,384 \\ &= 0,004\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Total Perlakuan(KTP)} &= \frac{\text{JKPerlakuan}}{\text{DBPerlakuan}} = \frac{0,384}{4} \\ &= 0,096\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Kuadrat Total Galat (KTG)} &= \frac{\text{JKGalat}}{\text{DBGalat}} = \frac{0,004}{14} \\ &= 2,857 \times 10^{-4}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{F Hitung} &= \frac{\text{KTPerlakuan}}{\text{KTGalat}} = \frac{0,096}{2,857 \times 10^{-4}} \\ &= 336,017\end{aligned}$$

$$\text{F Tabel } (v_1, v_2) = (4, 14) \text{ pada taraf nyata } 1 \% = 5,04$$

Tabel L.3.2. Analisa sidik ragam satu arah penentuan lama waktu inkubasi

Sumber keragaman	db	JK	KT	F	
				Hitung	Tabel
Perlakuan	4	0,384	0,096	336,017	5,04
Galat	14	0,004	$2,857 \times 10^{-4}$		
Total	14	0,388	0,096		

F hitung > F tabel maka terdapat perbedaan yang sangat nyata dalam perlakuan lama inkubasi sehingga dilakukan pengujian lebih lanjut dengan uji BNT.

$$BNT_{(0,01)} = t_{(0,01/2,dbG)} \sqrt{\frac{2KTG}{n}} = 2,977 \times \sqrt{\frac{2 \times 2,857 \times 10^{-4}}{4}}$$

$$= 2,977 \times 0,012$$

$$= 0,036$$

Tabel L.3.3. Selisih rerata antar perlakuan lama inkubasi

Lama Inku-basi	Rerata tebal nata	Lama Inkubasi						
		1	3	5	7	9	11	13
		Rerata tebal nata						
		0	0,028	0,091	0,180	0,278	0,343	0,349
1	0	-						
3	0,028	0,028	-					
5	0,091	0,091*	0,063*	-				
7	0,180	0,180*	0,152*	0,089*	-			
9	0,278	0,278*	0,250*	0,187*	0,098*	-		
11	0,343	0,343*	0,315*	0,252*	0,163*	0,065*		
13	0,349	0,349*	0,321*	0,258*	0,169*	0,071*	0,006	-

(*) = berbeda nyata pada taraf 1%

Tabel L.3.4 Hasil analisis BNT 1% lama inkubasi terhadap tebal nata

Lama Inkubasi(hari)	Tebal rata-rata nata (cm)	Notasi
1	0	a
3	0,028	a
5	0,091	b
7	0,180	c
9	0,278	d
11	0,343	e
13	0,349	e

Nilai rata-rata dengan notasi yang sama menunjukkan tidak beda nyata dengan uji BNT 1%

Lampiran 4 : Kadar Serat Kasar

$$\text{Kadar serat kasar} = \frac{\text{Berat serat kasar}}{\text{Berat sampel}} \times 100 \%$$

$$= \frac{0,046 \text{ gram}}{2 \text{ gram}} \times 100 \%$$

$$\text{Kadar serat kasar} = 2,3 \%$$

