



**KARAKTERISTIK NATA HASIL FERMENTASI AIR CUCIAN  
BERAS MENGGUNAKAN *Aspergillus oryzae* dan *Acetobacter  
xylinum***

**SKRIPSI**

oleh  
**Dwi Rizki Bayuana**  
**NIM 081710101069**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOG HASIL PERTANIAN  
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

**KARAKTERISTIK NATA HASIL FERMENTASI AIR CUCIAN  
BERAS MENGGUNAKAN *Aspergillus oryzae*  
dan *Acetobacter xylinum***

**SKRIPSI**

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh  
**Dwi Rizki Bayuana**  
**NIM 081710101069**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOG HASIL PERTANIAN  
JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## MOTTO

*“Man Jadda Wa Jadda”*

*(Anonim)*

*“Kelak Allah akan memberikan kelapangan sesudah  
kesempitan”*

*(Ath-thalaq : 7)*

*“Pilihan kitalah yang jauh lebih menunjukkan siapa diri kita  
sebenarnya, bukan kemampuan kita”*

*(Harry Potter and the Sorcerer’s Stone)*

## PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dwi Rizki Bayuana

NIM : 081710101069

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul :  
**“KARAKTERISTIK NATA HASIL FERMENTASI AIR CUCIAN BERAS MENGGUNAKAN *Aspergillus oryzae* DAN *Acetobacter xylinum*”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika pernyataan ini tidak benar.

Jember, Oktober 2014

Yang menyatakan,

Dwi Rizki Bayuana

NIM. 081710101069

**SKRIPSI**

**KARAKTERISTIK NATA HASIL FERMENTASI AIR CUCIAN  
BERAS MENGGUNAKAN *Aspergillus oryzae*  
DAN *Acetobacter xylinum***

Oleh  
Dwi Rizki Bayuana  
NIM. 081710101069

Pembimbing

**Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Jayus**

**Dosen Pembimbing Anggota : Ir. Giyarto, M.Sc**

## **PENGESAHAN**

Skripsi berjudul ” **Karakteristik Nata Hasil Fermentasi Air Cucian Beras Menggunakan *Aspergillus oryzae* Dan *Acetobacter xylinum*** ” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Selasa, 28 Oktober 2014

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota

**Dr. Ir. Jayus**

NIP. 196805161992031004

**Ir. Giyarto, M.Sc**

NIP. 196607181993031013

### **Tim Penguji**

Penguji I

Penguji II

**Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App. Sc.**

NIP. 196411091989021002

**Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si**

NIP. 196307011989031004

### **Mengesahkan**

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember,

**Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P**

NIP.196912121998021001

## RINGKASAN

### **Karakteristik Nata Hasil Fermentasi Air Cucian Beras Menggunakan**

*Aspergillus oryzae* Dan *Acetobacter xylinum*; Dwi Rizki Bayuana,

081710101069; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian  
Universitas Jember.

Air cucian beras merupakan limbah pengolahan beras. Bahan limbah tersebut masih mengandung banyak senyawa tersuspensi seperti karbohidrat yang sebagian besar terdiri dari pati sekitar 75%. Dalam pembuatan nata, *Acetobacter xylinum* membutuhkan gula sebagai sumber karbon. Pati yang ada dalam air cucian beras dapat didegradasi menjadi gula sederhana dengan bantuan *Aspergillus oryzae*. Sehingga gula tersebut dapat digunakan *A. xylinum* dalam memproduksi nata. Penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh lama fermentasi oleh *Asp. oryzae* dan konsentrasi gula pasir yang ditambahkan pada media air cucian beras pasca fermentasi oleh *Asp. oryzae* terhadap karakteristik nata yang dihasilkan *A. xylinum*.

Penelitian bertujuan untuk mempelajari pengaruh lama fermentasi *Asp. oryzae* dan konsentrasi penambahan gula pasir pasca fermentasi *Asp. oryzae* terhadap karakteristik nata yang dihasilkan. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember. Air cucian beras yang digunakan diperoleh dari 1 liter air untuk pencucian 1 kg beras merk “Du’anak”. Volume media produksi nata persampel sebanyak 250 ml. Starter nata (*A. xylinum*) didapat dari UD. Citra Mandiri Margo Mulyo Jember dan Kultur *Asp. oryzae* didapat dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember. Penelitian dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan parameter analisis karakteristik nata mentah yaitu ketebalan, tekstur, warna dan berat basah nata. Data hasil penelitian yang didapat diolah

dengan melakukan perhitungan rata-rata, standart deviasinya dan disajikan dalam bentuk grafik.

Hasil penelitian menunjukkan karakteristik nata yang dihasilkan dari pasca fermentasi *Asp. oryzae* selama 48 jam lebih baik dibandingkan dari hasil fermentasi 24 jam. Pada fermentasi *Asp. oryzae* selama 48 jam menghasilkan nata yang nilai ketebalan, tekstur, nilai L dan berat basahnya lebih tinggi dibandingkan fermentasi selama 24 jam. Semakin lama fermentasi oleh *Asp. oryzae*, semakin terlihat nata yang dihasilkan.

Peningkatan persentase gula pasir dalam media pasca fermentasi *Asp. oryzae* menunjukkan nata yang dihasilkan semakin baik. Peningkatan konsentrasi gula pasir sebanyak 6 % menghasilkan nata lebih tebal, nilai tekstur lebih tinggi (lebih kenyal), nilai L yang lebih tinggi dan lebih berat dibandingkan konsentrasi gula pasir 0% dan 3%. Pada fermentasi media yang berkonsentrasi gula 6% dan telah difermentasi *A. oryzae* selama 48 jam, nilai berat, ketebalan, tekstur dan warna didapat dengan nilai berturut-turut: 99,67 g; 2,2 cm; 507,67 g/5mm; 27,63 sedangkan pada fermentasi *Asp. oryzae* selama 24 jam diperoleh nata yang nilai berat, nilai ketebalan, tekstur dan warnanya berturut-turut: 44,68 g; 2 cm; 421,55 g/5mm; 27,53.

Hal ini menunjukkan bahwa keberadaan *Asp. oryzae* tidak mengganggu *A. xylinum* memproduksi nata dari air cucian beras dan mampu membantu ketersediaan sumber karbon bagi *A. xylinum*. Lama fermentasi *Asp. oryzae* mempengaruhi nata yang dihasilkan *A. xylinum*, begitu juga pada penambahan gula pasir. Semakin banyak gula (sumber karbon) yang tersedia, maka semakin baik nata yang dihasilkan *A. xylinum*.

## PRAKATA

Syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Karya Ilmiah Tertulis dengan judul : Karakteristik Nata Hasil Fermentasi Air Cucian Beras Menggunakan *Aspergillus oryzae* Dan *Acetobacter xylinum*. Karya Ilmiah Tertulis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari kendala-kendala yang ada, namun berkat dukungan dan arahan dari berbagai pihak, akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik, oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Ir. Giyarto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
3. Dr. Ir. Jayus, selaku Dosen Pembimbing Utama, yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan, pengarahan demi kemajuan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi ini;
4. Ir. Giyarto, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Anggota dan juga selaku Dosen Pembimbing Akademik, yang telah meluangkan waktu dan pikiran memberikan nasehat, kritik, dan saran sehingga karya tulis ini dapat terselesaikan dengan baik dan memberikan perhatian dalam bentuk nasihat selama kegiatan bimbingan akademik;
5. Dr. Ir. Sony Suwasono, M.App. Sc. dan Ir. Mukhammad Fauzi, M.Si, selaku tim penguji, atas saran dan evaluasi demi perbaikan penulisan skripsi;
6. Bapak Sardi, selaku pengelola UD. Citra Mandiri Margo Mulyo Jember yang telah berkenan menyediakan stater nata guna memperlancar penelitian;

7. Seluruh karyawan dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian dan Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Universitas Jember;
8. Kedua orang tuaku dan kakakku, serta seluruh keluarga besar Jember yang telah memberikan doa dan dorongan demi terselesaikannya skripsi ini;
9. Keluarga kecil lainnya; Maria Rani Agustina, Siska Arianti, Indah Yulianingrini, Maria Dolorosa, Hervian Rahardiansyah, Wondy Prahasta,, Ifriyono Santoso, Mahmud Al- Atok, Eko Siswantoro, yang telah menorehkan kenangan, memberikan arti pertemanan dan motivasi sejak awal kita kenal hingga sekarang;
10. Saudara- saudaraku Dolanan, kakak-kakak maupun adik-adik, terima kasih atas rasa persaudaraan yang kalian ciptakan;
11. Teman-teman seperjuangan THP dan TEP 2008, terima kasih atas persahabatan yang terjalin selama ini;
12. Seluruh staff, pengajar dan pimpinan LKP TEXAS, yang tak luput serta dalam pemberian doa dan motivasi untuk menyelesaikan skripsi;
13. Teman – teman sehoobi; Uphie, Seweng, Firdian, Agung dan juga “My Special Partner” Zulmi Yuan, terima kasih telah menemaniku hunting foto dan travelling disaat jenuh dengan tulisan-tulisan ilmiah.

Penulis menyadari bahwa di dalam Karya Tulis ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan Karya Tulis ini sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya.

Jember, Oktober 2014

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN SAMPUL</b> .....	i
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBINGAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>PRAKATA</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	3
<b>1.3 Tujuan Penelitian</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat Penelitian</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Nata</b> .....	4
2.1.1 Pembentukan Nata .....	5
2.1.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi pembentukan nata. ....	5
2.1.3 <i>Acetobacter xylinum</i> .....	8
<b>2.2 Air Cucian Beras</b> .....	9
2.2.1 Komponen Air cucian beras atau air leri.....	9
2.2.2 Pati dalam Air Cucian Beras.....	10
<b>2.3 Mekanisme Enzim pemecah pati</b> .....	12
<b>2.4 Sifat-sifat <i>Aspergillus oryzae</i></b> .....	13
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	17
<b>3.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	17

3.1.1 Tempat penelitian .....	17
3.1.2 Waktu penelitian.....	17
<b>3.2 Bahan dan Alat Penelitian .....</b>	<b>17</b>
3.2.1 Bahan penelitian.....	17
3.2.2 Alat penelitian.....	17
<b>3.3 Metode Penelitian .....</b>	<b>17</b>
3.3.1 Rancangan penelitian.....	17
3.3.2 Pelaksanaan penelitian.....	18
<b>3.4 Parameter Analisis .....</b>	<b>21</b>
3.4.1 Kadar glukosa air cucian beras .....	21
3.4.2 Ketebalan .....	21
3.4.2 Warna.....	21
3.4.3 Tekstur .....	22
3.4.4 Berat basah.....	22
<b>3.5 Definisi Operasional .....</b>	<b>22</b>
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>23</b>
4.1 Kadar Glukosa Air Cucian Beras Pasca Terfermentasi oleh <i>A. oryzae</i> .....	23
4.3 Pengaruh lama fermentasi <i>A. oryzae</i> dan konsentrasi gula pasir terhadap ketebalan nata.....	24
4.4 Pengaruh lama fermentasi <i>A. oryzae</i> dan konsentrasi gula pasir terhadap tekstur nata .....	25
4.5 Pengaruh lama fermentasi <i>A. oryzae</i> dan konsentrasi gula pasir terhadap warna nata .....	27
4.6 Pengaruh lama fermentasi <i>A. oryzae</i> dan konsentrasi gula pasir terhadap berat basah nata.....	28
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>	<b>31</b>
<b>5.1 Kesimpulan .....</b>	<b>31</b>
<b>5.2 Saran .....</b>	<b>31</b>
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>32</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>35</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Kondisi optimal kehidupan bakteri <i>Acetobacter xylinum</i> untuk pembuatan nata de coco .....	8
2.2 Nilai gizi air cucian beras.....	10
4.1 Nilai rerata ketebalan, tekstur, warna dan berat basah nata bermedia Air cucian beras dihasilkan dari fermentasi <i>A. xylinum</i> dengan fermentasi campuran <i>A. oryzae</i> dan <i>A. xylinum</i> .....	24

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Struktur molekul glukosa, fruktosa dan galaktosa .....	11
2.2 Struktur molekul sukrosa, maltosa dan laktosa.....	11
2.3 Morfologi <i>A. oryzae</i> .....	14
3.1 Diagram alir pembuatan nata .....	20
3.2 Diagram alir fermentasi air cucian beras dengan <i>A. oryzae</i> .....	21
3.3 Diagram alir pembuatan nata pasca fermentasi oleh <i>A. oryzae</i> .....	22
4.1 Grafik kadar glukosa air cucian beras pasca fermentasi <i>A. oryzae</i> .....	23
4.2 Grafik nilai rerata ketebalan nata air cucian beras yang dihasilkan <i>A. xylinum</i> dengan lama inkubasi 14 hari pasca fermentasi <i>A. oryzae</i>	24
4.3 Grafik nilai rerata tekstur nata air cucian beras yang dihasilkan <i>A. xylinum</i> dengan lama inkubasi 14 hari pasca fermentasi <i>A. oryzae</i>	25
4.4 Grafik nilai rerata nilai L nata air cucian beras yang dihasilkan <i>A. xylinum</i> dengan lama inkubasi 14 hari pasca fermentasi <i>A. oryzae</i>	27
4.5 Grafik nilai rerata berat nata air cucian beras yang dihasilkan <i>A. xylinum</i> dengan lama inkubasi 14 hari pasca fermentasi <i>A. oryzae</i>	28

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
<b>A. Data Hasil Pengamatan Ketebalan</b> .....	35
<b>B. Data Hasil Pengamatan Tekstur</b> .....	36
<b>C. Data Hasil Pengamatan Warna</b> .....	37
<b>D. Data Hasil Pengamatan Berat Basah</b> .....	39
<b>E. Lampiran Gambar</b> .....	40

## **BAB 1. PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Nata merupakan jenis makanan hasil fermentasi dengan menggunakan bantuan bakteri *Acetobacter xylinum*. Bahan makanan ini berbentuk padat, kokoh, kuat, putih/krem, transparan, kenyal, dengan rasa mirip kolang-kaling. Nata banyak digunakan sebagai pencampur es krim, coctail buah, sirup dan makanan ringan lainnya. Nilai gizi makanan ini sangat rendah sekali, kandungan terbanyak adalah air yaitu sebesar 98% (Astawan, 1991).

Bahan baku yang umum digunakan adalah air kelapa, sehingga dikenal sebagai *nata de coco*. Air kelapa digunakan sebagai bahan baku karena kandungan gizinya yang kaya dan relative lengkap, sehingga sesuai pertumbuhan mikroba. Menurut Hidayat (1985), air kelapa mengandung banyak gula dan mineral sehingga cocok untuk dibuat minuman fermentasi.

Selain dari air kelapa, nata juga dibuat dari berbagai buah-buahan seperti nenas (*nata de pina*), tomat (*nata de tomato*) dan buah-buahan lain yang cukup banyak mengandung gula, ataupun dari kedelai (*nata de soja*). Menurut Warisno (2004) seiring perkembangan teknologi, bahan membuat nata semakin beragam, dapat dibuat dari *whey* tahu, buah jambu mete, pulp kakao, lidah buaya, atau kulit nanas.

Pengembangan produk nata diperkirakan mempunyai prospek yang cerah di masa yang akan datang. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa semakin banyak industri nata yang berdiri dan produk nata yang beredar di pasaran. Dalam rangka pengembangan produk nata maka perlu dicari bahan baku selain air kelapa. Salah satu kemungkinannya adalah air cucian beras. Beras merupakan salah satu makanan pokok masyarakat Indonesia. Beras yang mengalami pengolahan lebih lanjut, akan melalui pencucian. Pencucian beras menghasilkan limbah berupa air cucian beras. Secara ekonomi air cucian beras tidak bernilai bagi kebanyakan orang. Bahkan air cucian beras dianggap sampah. Hampir tidak ada orang yang memanfaatkannya untuk dijadikan bahan baku makanan.

Di dalam beras terkandung beberapa komponen penting bagi manusia diantaranya karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral. Sebagian terbesar dari karbohidrat dalam beras berupa pati dan hanya sebagian kecil berupa selulosa, dan gula. Menurut Munandar (1990) kadar pati pada beras sekitar 75%, dari beberapa kandungan gizi beras, zat pati tertinggi terdapat pada endosperma dan kulit pembungkus biji. Pada pencucian beras, beberapa komponen tersebut akhirnya ikut terlarut terbawa.

Dari kandungan nutrisi yang terdapat dalam air cucian beras tersebut maka dapat dijadikan bahan utama dalam pembuatan nata. Karbohidrat yang berupa pati terdapat dalam air cucian beras digunakan sebagai sumber karbon *A. xylinum* dengan menghidrolisis pati menjadi gula. Menurut Goutera (1997), pati dan selulosa merupakan suatu polisakarida, sehingga untuk memperoleh gula yang dapat digunakan pada fermentasi harus melalui tahap hidrolisis dengan menggunakan asam atau enzim. Polisakarida merupakan suatu senyawa kompleks yang terdiri dari unit-unit terkecil, yaitu glukosa. Pemecahan polisakarida oleh enzim amilase dapat menghasilkan oligosakarida, dekstrin, maltosa, maltotriosa dan glukosa .

Kapang telah secara luas digunakan untuk menghasilkan enzim amilase. Kapang juga diketahui sebagai penghasil protein ekstraseluler, dan secara luas telah dieksploitasi untuk menghasilkan berbagai macam enzim termasuk amilase. Kapang dari genus *Aspergillus* yang sering digunakan untuk menghasilkan enzim  $\alpha$ -amilase (Fardiaz, 1992).

Untuk membentuk jalinan – jalinan selulosa yang disebut nata, *A. xylinum* membutuhkan sumber karbon dan sumber nitrogen yang cukup. Adanya *A. oryzae* yang dapat menghasilkan enzim amilase diharapkan juga dapat membantu *A. xylinum* memproduksi nata secara maksimal tanpa penambahan gula pasir dalam media pembuatan nata.

## **1.2 Rumuan Masalah**

Air cucian beras masih dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku membuat nata. Untuk memproduksi nata, *A. xylinum* memerlukan sumber karbon dan sumber nitrogen, sedangkan pada air cucian beras kandungan terbesar dalam air cucian beras adalah karbohidrat yang berupa pati. Untuk itu pati tersebut perlu didegradasi terlebih dahulu menjadi gula sederhana. *A. oryzae* sebagai penghasil enzim  $\alpha$ -amilase, diharapkan dapat membantu mengubah pati menjadi sumber karbon yang dibutuhkan *A. xylinum* sehingga menghasilkan nata secara maksimal. Namun belum diketahui apakah dengan adanya fermentasi menggunakan *A. oryzae*, *A. xylinum* dapat memproduksi nata secara maksimal. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang pengaruh lama fermentasi *A. oryzae* terhadap kemampuan *A. xylinum* dalam memproduksi nata. Dengan adanya *A. oryzae* apakah masih perlu adanya penambahan gula pasir dalam media pembuatan nata.

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui pengaruh adanya fermentasi oleh *A. oryzae* terhadap produksi nata yang dihasilkan *A. xylinum*.
2. Mengetahui pengaruh lama fermentasi *A. oryzae* terhadap karakteristik nata yang dihasilkan *A. xylinum*.
3. Mengetahui pengaruh konsentrasi gula pasir pada media air cucian beras pasca fermentasi *A. oryzae* terhadap karakteristik nata.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

1. Mengurangi dampak limbah air cucian beras.
2. Meminimalisir penggunaan gula pasir dalam produksi nata dari air cucian beras.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Nata

Nata merupakan jenis makanan hasil fermentasi olahan bakteri *Acetobacter xylinum*. Wujudnya berupa sel berwarna putih hingga abu-abu muda dan teksturnya kenyal seperti kolang kaling. Produk ini banyak digunakan sebagai campuran minuman seperti cocktail buah, sirup dan minuman lainnya.

Nata dapat digunakan sebagai sumber makanan rendah untuk keperluan diet karena gizi produk ini sangat rendah. Komponen utama nata adalah selulosa yang mampu mengikat air sebesar 95%. Sebagai makanan berserat, nata memiliki kandungan selulosa  $\pm 2,5\%$  dan lebih dari 95% kandungan air (Palungkun, 1996).

Selulosa bakteri merupakan polimer alam yang bersifat menyerupai hydrogel yang diperoleh dari polimer sintetik. Selulosa tersusun atas unit-unit glukosa melalui ikatan  $\alpha$ -1,4-glukosa dengan ikatan  $\beta$ -glikosidik. Antara pita-pita polimer terdapat jembatan hydrogen antar molekul dan intramolekul yang menyebabkan selulosa mempunyai struktur yang kompak. Selulosa bakteri menunjukkan kadar air yang tinggi (98-99%), daya serap cairan yang baik, bersifat non-allergenik dan dapat disterilisasi tanpa mempengaruhi karakteristik bahan (Ciechanska, 2004).

Selama ini kebanyakan nata berasal dari air kelapa, yang disebut *Nata de coco*. *Nata de coco* memiliki kandungan serat 2,75%, protein 1,5 - 2%, lemak 0,35% dan sisanya adalah air. Berdasarkan penelitian A. Jagannath (2008), membuktikan bahwa pada konsentrasi gula 1 - 1,5%, urea 0,4 - 0,6% dan pH 3,5 - 4,2, pertumbuhan bakteri *A. xylinum* berjalan dengan baik, yang mana tebal dari serat basah *Nata de coco* yang terbentuk berkisar 9,13 - 14,57 mm dan massa serat basah yang terbentuk antara 439 - 595 gram untuk setiap 700 ml media air kelapa setelah 9 hari waktu pertumbuhan. Besar densitas serat nata de coco kering rata - rata adalah 1,15 g/cm<sup>3</sup> dan serat kering nata de coco yang dihasilkan rata - rata di bawah 1% w/w dari serat hidrogelnya, yaitu sekitar 0,88% - 0,96% w/w.

Untuk pertumbuhan dan aktivitasnya, *A. xylinum* membutuhkan unsur makro dan mikro. Unsur makro terdiri atas karbon dan mineral, sedangkan mikro terdiri

atas mineral. Menurut Alaban (1962), kemampuan air kelapa menghasilkan nata disebabkan oleh kandungan nutrisi yang kaya relative dan lengkap serta sesuai dengan pertumbuhan bakteri. Air kelapa mengandung gula yang terdiri dari sukrosa, glukosa dan fruktosa.

#### **2.1.1. Pembentukan Nata**

Nata merupakan produk hasil fermentasi dari gula (glukosa) dengan bantuan bakteri *A. xylinum* yang kemudian diubah menjadi selulosa. Gula dalam pembuatan nata mempunyai peranan penting sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan *A. xylinum*. Menurut Goutara dan Wijandi (1975), sukrosa dapat terhidrolisa dengan adanya asam dan enzim sukrose menjadi glukosa dan fruktosa. Menurut Cuningham (1978), dalam produksi nata, fosfat anorganik perlu ditambahkan kedalam medium karena bahan tersebut sangat diperlukan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa.

Biosintesis selulosa dicapai dengan polimerisasi residu glukosa menggunakan substrat UDP-glukosa yang dikatalisis oleh enzim selulosa sintase yang berada dalam membran sel bakteri. Dalam sistem biakan statis, bakteri *A. xylinum* menghasilkan fibril-fibril selulosa terikat membentuk pelikel (lapisan tipis nata) yang mengikat sel-sel bakteri. Pelikel (lapisan tipis nata) mulai dapat terlihat di permukaan media cair setelah 24 jam inkubasi, bersamaan dengan terjadinya proses penjernihan cairan di bawahnya. Sebagian bakteri terbawa dalam jaringan halus dan transparan yang terbentuk di permukaan (Chawla, 2009). Menurut Meyer (1960), selulosa disintesis melalui reaksi bertahap UDP glukosa dan Selodekstrin. Selodekstrin dihasilkan dari penggabungan UDP glukosa dengan unit glukosa. Reaksi pembentukan selodekstrin berlangsung terus sampai terbentuk senyawa yang terdiri dari 30 unit glukosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4.

#### **2.1.2. Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Pembentukan Nata**

Pertumbuhan *A. xylinum* dipengaruhi oleh beberapa faktor. Faktor-faktor yang sangat berpengaruh terhadap pembentukan nata yaitu : media fermentasi, jumlah larutan stater dan umur bakteri.

Syarat media untuk pembuatan nata antara lain mempunyai sumber karbon dapat berupa gula, sumber nitrogen dapat berupa penambahan urea/ZA, mineral dan vitamin yang mendukung pertumbuhan bakteri *A. xylinum*. Pertumbuhan *A. xylinum* membutuhkan vitamin-vitamin tertentu dari vitamin B kompleks atau campuran asam-asam amino yang cukup dilengkapi dengan zat organik, nitrogen, dan vitamin. *A. xylinum* memperoleh energi dengan cara mengoksidasi sukrosa dengan *dissimilasi anaerob* (yaitu proses penguraian zat untuk membebaskan energi tanpa adanya oksigen). Energi yang timbul dari proses perombakan sukrosa oleh *A. xylinum* kemudian digunakan untuk menjalankan metabolisme dalam sel bakteri tersebut (Soeseno, 1984).

Apabila di dalam medium fermentasi ditambahkan gula yang terdiri dari sukrosa, glukosa atau laktosa sebagai sumber karbon untuk pembentukan pelikel nata maka nata yang terbentuk akan menjadi tebal dan berat maksimal. Pemilihan gula yang baik biasanya digunakan gula pasir (sukrosa). Hal ini mengingat gula pasir murah harganya dan mudah didapat. Bahan organik lain selain unsur karbon yang harus ada dalam bakteri adalah unsur nitrogen yang berguna untuk menyusun protoplasma. Pada umumnya Na, K, Ca, Mg, Fe, Si, S, P sedang pada spesies tertentu masih membutuhkan tambahan mineral seperti Mn dan Mo (Dwidjoseputro, 1997).

Menurut Ajaban (1962), sumber nitrogen yang merupakan faktor pendukung pertumbuhan aktivitas bakteri nata dapat berasal dari nitrogen organik maupun nitrogen anorganik. Sumber nitrogen organik diantaranya protein dan ekstrak yeast, pepton dan tripton. Nitrogen anorganik seperti ammonium fosfat, urea, kalium nitrat, dan ZA. Sumber nitrogen anorganik sangat murah dan fungsinya tidak kalah jika dibandingkan dengan sumber nitrogen organik. Bahkan diantara sumber nitrogen anorganik yaitu ammonium sulfat, memiliki kelebihan seperti murah, mudah larut, dan selektif bagi mikroorganisme lain. Kombinasi sumber nitrogen organik dan anorganik memperlihatkan peningkatan perolehan selulosa lebih tinggi dibandingkan dengan sumber anorganik saja. Menurut Muchtadi dan Sugiyono (1992), pengaruh sumber nitrogen terhadap nata yang dihasilkan menunjukkan bahwa penambahan ammonium sulfat mempunyai

pengaruh yang besar terhadap ketebalan nata dibandingkan dengan medium yang tidak diberi penambahan.

Derajat keasaman yang dibutuhkan dalam pembuatan nata adalah 2-5 atau dalam suasana asam. Suatu perubahan kecil pada pH dapat menimbulkan perbedaan besar pada kecepatan beberapa reaksi enzimatik yang amat penting bagi organisme. Bakteri *A. xylinum* adalah sejenis bakteri yang bersifat aerob, maka dalam merombak gula dan menyusunnya menjadi nata, bakteri tersebut memerlukan oksigen yang diperoleh dari oksigen terlarut dalam medium atau oksigen yang bersal dari udara bebas (Widya, 1984).

Menurut Srikandi (1985), dalam pembuatan nata de coco sangat diperlukan kondisi yang optimal untuk kehidupan bakteri *A. xylinum*, agar mencapai produksi yang maksimal. Parameter dari kondisi optimum tercantum dalam Tabel 2.1.

**Tabel 2.1. Kondisi optimal kehidupan bakteri *Acetobacter xylinum* untuk pembuatan nata de coco**

Parameter	Kondisi Optimum
Sumber Karbon	Sukrosa (5-8%)
Sumber Nitrogen	N. Organik atau anorganik
Asam cuka glisial	2-4%
Starter	5-10%
Waktu Fermentasi	7-15 Hari

Sumber : Srikandi (1985)

Starter adalah kultur (bibit) yang telah siap tumbuh dan berkembang dalam media cair yang merupakan suspensi dari sel *A. xylinum*. Jumlah starter yang ditambahkan kedalam media fermentasi sangat berpengaruh terhadap nata de coco yang dihasilkan. Jumlah penambahan larutan stater yang optimal untuk pembuatan nata de coco berkisar 10-20%. Penambahan sampai 20% dilakukan bila pada medium terdapat inhibitor (penghambat). Semakin banyak jumlah stater yang digunakan, maka gula atau nutrient dalam media fermentasi harus lebih banyak untuk disintesis menjadi nata. Untuk memperoleh tebal dan berat yang

maksimal, diperlukan penambahan starter yang sesuai dengan medium fermentasi (Judoamidjojo, 1990).

Umur starter yang digunakan dalam medium fermentasi pada pembuatan *nata de coco* berpengaruh pada nata yang dihasilkan. Menurut Jutono (1997), umur kultur 48 jam memungkinkan pertumbuhan bakteri dalam keadaan fase logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan tertinggi, waktu generasi pendek atau konstan. Jika kultur bakteri dari fase ini dipindahkan ke medium baru yang sama, maka pertumbuhannya akan tetap pada fase sebelumnya, sehingga tidak melalui fase permulaan dan fase pertumbuhannya dipercepat (Dwidjoseputro, 1997).

Menurut Bhakti (1974) umur bakteri yang digunakan juga akan mempengaruhi ketebalan dan sifat natayang dihasilkan. Semakin tua umur kultur akan semakin menurunkan hasil bobot dan ketebalan. Umur bakteri 7 hari masih dapat membentuk natayang baik, sehingga koleksi kultur murni bakteri tersebut dalam laboratorium perlu pemindahan untuk permudaan setiap tujuh hari

### **2.1.3. *Acetobacter xylinum***

*Acetobacter xylinum* atau *Gluconacetobacter xylinus* merupakan bakteri berbentuk batang pendek dan tergolong ke dalam jenis bakteri Gram negatif, memiliki lebar 0.5-1  $\mu\text{m}$  dan panjang 2-10  $\mu\text{m}$ . Bakteri *A. xylinum* mampu mengoksidasi glukosa menjadi asam glukonat dan asam organik lain pada waktu yang sama. Sifat yang paling menonjol dari bakteri itu adalah memiliki kemampuan untuk mempolimerisasi glukosa menjadi selulosa. Selanjutnya selulosa tersebut membentuk matrik yang dikenal sebagai nata.

Klasifikasi ilmiah bakteri selulosa atau *A. xylinum* adalah :

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Alpha Proteobacteria
Ordo	: Rhodospirillales
Familia	: Pseudomonadaceae
Genus	: Acetobacter

Spesies : *Acetobacter xylinum*

(Munawar, 2009)

*Acetobacter xylinum* mempunyai tiga enzim yang aktif yaitu enzim kinase, enzim ekstraseluler selulosa sintase dan enzim protein sintetase. Enzim ekstraseluler selulosa polymerase aktif pada pH 4 yang berfungsi membentuk benang – benang selulosa (nata). Enzim protein sintetase aktif pada pH 3 – 6 yang berfungsi untuk mengubah makanan yang mengandung C, H, O dan N menjadi protein. Apabila ditumbuhkan dalam media yang kaya akan sukrosa, bakteri ini akan memecah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa (Mandel, 2004).

Budyanto (2002) menyatakan bahwa bakteri pembentuk nata termasuk golongan *Acetobacter* yang mempunyai ciri-ciri antara lain Gram negatif untuk kultur yang masih muda, Gram positif untuk kultur yang sudah tua, obligat aerobik, berbentuk batang dalam medium asam, sedangkan dalam medium alkali berbentuk oval, dan tidak membentuk endospore maupun pigmen, pada kultur sel yang masih muda individu sel berada sendiri – sendiri dan transparan sedangkan koloni yang sudah tua membentuk lapisan menyerupai gelatin yang kokoh menutupi sel dan koloninya, tidak mampu mencairkan gelatin dan tidak memproduksi H<sub>2</sub>S, tidak mereduksi nitrat dan memiliki *termal death point* pada suhu 65-70°C. *A. xylinum* menghasilkan selulosa sebagai produk metabolit sekunder, sedangkan produk metabolit primernya adalah asam asetat. Semakin banyak kadar nutrisi, semakin besar kemampuan menumbuhkan bakteri tersebut maka semakin banyak *A. xylinum* dan semakin banyak selulosa yang terbentuk. Menurut Madigan (2004), *A. xylinum* merupakan bakteri asam asetat yang berbentuk batang, suhu optimum pertumbuhannya 25-30°C dan mampu mengoksidasi etanol menjadi asam asetat pada pH 4,5.

## **2.2. Air Cucian Beras**

### **2.2.1. Komponen Air Cucian Beras atau Leri**

Air cucian beras/leri merupakan suatu limbah yang dihasilkan oleh kegiatan rumah tangga yaitu dari pencucian beras. Di dalam beras terkandung beberapa komponen penting bagi manusia diantaranya karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral. Sebagian besar dari karbohidrat dalam beras berupa pati dan hanya

sebagian kecil berupa selulosa, dan gula. Pati beras tersusun atas rangkaian-rangkaian unit gula (glukosa) yang terdiri dari fraksi rantai bercabang amilopektin dan fraksi rantai lurus amilosa (Munandar, 1990).

Beras (*Oryza sativa*) merupakan hasil olahan tanaman padi yang mengalami pelepasan tangkai serta kulit biji dengan cara digiling maupun ditumbuk. Dalam penggilingan padi proses pertama adalah pemisahan sekam dari biji beras yang tersusun atas pembungkus biji dan endosperm. Biji beras ini dikenal sebagai beras pecah kulit akan tetapi jarang untuk langsung dikonsumsi. Komponen terbesar beras adalah karbohidrat yang sebagian besar terdiri dari pati yang berjumlah 85-90%. Kandungan yang lain selain karbohidrat adalah selulosa, hemiselulosa dan pentosan. Zat pati tertinggi terdapat pada bagian endosperm, makin ke tengah kandungan patinya makin menipis (Darmadjati, 1988).

Air cucian beras adalah air yang diperoleh dari hasil pencucian beras. Kandungan air cucian beras (2 kg beras : 1 liter air) terlihat pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2. Nilai gizi air cucian beras / air pencucian beras**

Komposisi	Jumlah (mg/L)
Lemak	90,0
Protein	420,0
Karbohidrat	300,0
Kalsium	20,0
Fosfor	200,0
Besi	1,8
Vitamin B	0,9

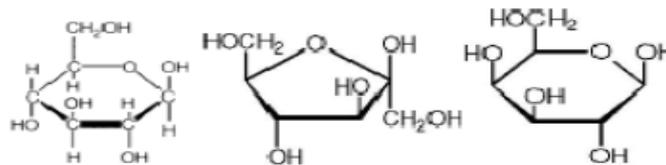
Sumber : Badan Penelitian dan Pengembangan Industri (1990)

### **2.2.2. Pati dalam Air Cucian Beras**

Beras merupakan salah satu makanan pokok masyarakat Indonesia. Konsumsi beras tertinggi adalah beras putih. Beras jenis ini diolah menjadinas yang merupakan ikon makanan di Indonesia. Beras yang mengalami pengolahan lebih lanjut, akan melalui proses pencucian. Proses pencucian ini menghasilkan limbah berupa air cucian beras. Air cucian beras

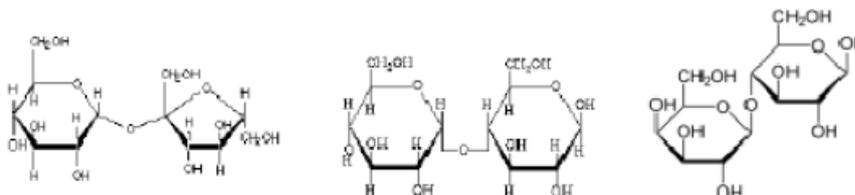
inimengandung karbohidrat jenis pati sebanyak 76% pada beras pecah kulit. Karbohidrat sebagai perantara hormon auksin dan giberelin dalam pertumbuhan tanaman. Selain karbohidrat, air cucian beras juga mengandung vitamin B1, fosfor, dan nitrogen (M. Nur Chamsyah dan Yoga Adesca, 2012).

Karbohidrat adalah polihidroksil aldehid atau keton atau senyawa-senyawa lainnya yang menghasilkan senyawa-senyawa ini bila dihidrolisa. Terdapat tiga golongan utama dari karbohidrat yaitu: monosakarida, oligosakarida dan polisakarida. Monosakarida biasa juga disebut gula sederhana yang terdiri dari satu unit polihidroksil aldehida atau keton. dari monosakarida ini yaitu: glukosa, fruktosa, dan galaktosa (Gambar 2.1), namun monosakarida yang paling banyak di alam adalah D-glukosa.



**Gambar 2.1.** Struktur molekul glukosa, fruktosa, dan galaktosa (dari kiri ke kanan)  
Sumber : Mayer (1996)

Bagian dari oligosakarida yaitu disakarida (dua unit monosakarida yang saling berikatan) contohnya sukrosa (ikatan antara glukosa dan fruktosa), maltose (dua unit glukosa yang saling berikatan), dan laktosa (ikatan antara galaktosa dan glukosa) (Gambar 2.2).



**Gambar 2.2.** Struktur molekul sukrosa, maltose dan laktosa (dari kiri ke kanan)  
Sumber : Mayer (1996)

Oligosakarida yang memiliki tiga atau lebih unit monosakarida tidak terdapat secara bebas di alam. Polisakarida yaitu rantai panjang yang terdiri dari ratusan bahkan ribuan unit monomer sakarida. Contoh polisakarida yang banyak terdapat di alam yaitu selulosa dan pati (Mayer, 1996).

Jenis karbohidrat dalam beras berupa pati. Pati pada beras terbuang bersama air ketika proses pencucian. Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan  $\alpha$ -glikosidik. Berbagai macam pati tidak sama sifatnya, tergantung dari panjang rantai C-nya, serta apakah lurus atau bercabang rantai molekulnya. Pati terdiri dari dua fraksi yang dapat dipisahkan dengan air panas. Fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi tidak larut disebut amilopektin. Amilosa mempunyai struktur lurus dengan ikatan  $\alpha$ -(1,4)-D-glukosa, sedang amilopektin mempunyai cabang dengan ikatan  $\alpha$ -(1,4)-D-glukosa sebanyak 4-5% dari berat total (Winarno, 2004).

### **2.3. Mekanisme Enzim Pemecah Pati**

Enzim adalah molekul biopolimer yang tersusun dari serangkaian asam amino dalam komposisi dan susunan rantai yang teratur dan tetap. Enzim amilae adalah sekelompok enzim yang memiliki kemampuan memutuskan ikatan glikosida yang terdapat pada senyawa polimer karbohidrat. Hasil molekul amilum ini akan menjadi monomer – monomer yang lebih sederhana, seperti maltosa, dektrin dan terutama molekul glukosa sebagai unit terkecil. Enzim amilae dihasilkan oleh berbagai jenis organisme hidup, mulai dari tumbuhan, hewan, manusia bahkan mikroorganisme seperti bakteri dan fungi. (Dessy, 2008).

Menurut Winarno (2004), mengelompokkan enzim pemecah pati menjadi  $\alpha$ -amilae,  $\beta$ -amilae dan amiloglukosidase. Menurut Kulp (1970) cara kerja enzim  $\alpha$ -amilae terjadi dua tahap. Pertama degradasi amilosa menjadi maltosa dan maltotriosa yang terjadi secara acak. Degradasi ini terjadi sangat cepat dan diikuti dengan menurunnya viskositas dengan cepat. Tahap kedua berlangsung relatif lambat, yaitu pembentukan glukosa dan maltosa. Kerja  $\alpha$ -amilae pada amilopektin dan glikogen menghasilkan glukosa, maltosa, dan berbagai jenis  $\alpha$ -limit dektrin.

Yaitu oligosakarida yang terdiri dari empat atau lebih residu gula yang semuanya mengandung ikatan  $\alpha$ -1,6.

Enzim  $\beta$ -amilase merupakan enzim ekso- $\alpha$ -amilase karena bekerja dari ujung rantai non reduksi dengan memecah tiap dua molekul glukosa pada ikatan  $\alpha$ -1,4 dari amilosa, amilopektin dan glikogen. Hasilnya adalah maltosa dan  $\beta$ -limit dektrin. Amiloglukosidase merupakan enzim yang dapat menghidrolisa baik ikatan  $\alpha$ -1,4 maupun  $\alpha$ -1,6 dari ujung non pereduksi pada amilosa, amilopektin dan glikogen, menghasilkan  $\beta$ -D-glukosa (Sivaramakrishnan, 2006).

#### **2.4. Sifat - Sifat *Aspergillus oryzae***

*A. oryzae* hidup sebagai saprofit atau parasit dengan masa berbentuk benang atau filamen, multiseluler, bercabang-cabang, dan tidak berklorofil. Masing-masing benang disebut hifa, dan kumpulan hifa disebut miselium. Miselium *A. oryzae* bersekat-sekat. Koloni yang sudah menghasilkan spora warnanya menjadi coklat kekuning-kuningan, kehijau-hijauan, atau kehitam-hitaman, miselium yang semula berwarna putih sudah tidak tampak lagi (Suriawiria, 1986).

Menurut Raper dan Fennel (1977), taksonomi *A. oryzae* yaitu;

Divisi : Eumycophyta

Kelas : Deuteromycetes

Bangsa : Moniliales

Suku : Moniliaceae

Marga : *Aspergillus*

Jenis : *Aspergillus oryzae*

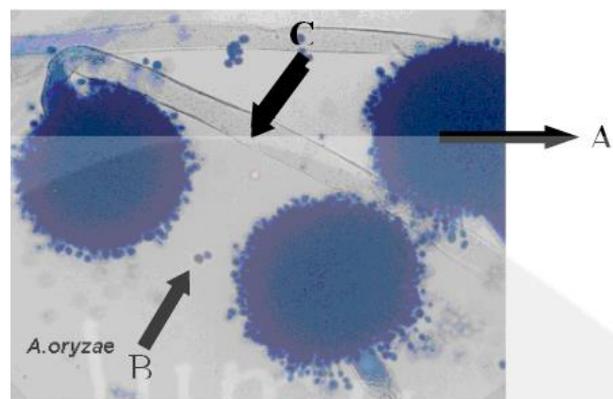
Perkembangbiakan secara vegetatif dilakukan dengan konidia, sedangkan pembiakan secara generatif dilakukan dengan spora yang terbentuk dalam askus. Beberapa askus terdapat di dalam suatu tubuh buah. Pada umumnya askusitu suatu ujung hifa yang mengandung 4 atau 8 buah spora (Dwidjoseputro, 1990).

*A. oryzae* terdapat dalam tanah dan juga beberapa tanaman kering seperti sereal, kacang – kacangan, dan jerami. Kapang tersebut selama pertumbuhan akan membentuk miselia putih dan akhirnya membentuk spora kehijauan. Suhu pertumbuhan optimum *A. oryzae* sekitar 35°C, tetapi suhu untuk produksi adalah

30°C sehingga fermentasi lebih banyak dilakukan pada suhu 30°C. *A. oryzae* dikenal sebagai kapang yang paling banyak menghasilkan enzim yaitu  $\alpha$ -amilase,  $\alpha$ -galaktosidase, amiloglukosidase, glutaminase, proteinase, dan  $\alpha$ -glukosidase (Wedhastri, 1990).

*A. oryzae* juga banyak digunakan dalam industri kecap. Pada fermentasi kapang dalam pembuatan kecap, *A. oryzae* tumbuh secara vegetatif dengan menggunakan nutrisi yang mempunyai berat molekul rendah serta membebaskan beberapa enzim yaitu protease,  $\alpha$ -amilase, invertase, dan selulase. Dari beberapa enzim ini yang paling penting adalah enzim protease dan  $\alpha$ -amilase. Kedua enzim ini akan merombak protein dan karbohidrat menjadi senyawa yang lebih sederhana yaitu asam amino dan glukosa. Selain itu, *A. oryzae* dimanfaatkan dalam pembuatan koji, sake, shoyu, dan miso. Proses fermentasinya tidak menghasilkan aflatoxin. *A. oryzae* bukan mikroba patogen (Domash, 1996).

Morfologi jamur *A. oryzae* dapat dilihat pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3.** Morfologi *Aspergillus oryzae*. A. Kepala Konidia, B. Konidia, C. Konidiofora (Sumber: Dung, 2007)

Menurut Suwaryono (1988), pertumbuhan *A. oryzae* memerlukan kondisi aerobik, suhu optimum 35-37°C, pH optimum 4-6,5, substrat terutama karbohidrat dan kadar air harus tinggi. *A. oryzae* dikenal sebagai jamur yang paling banyak menghasilkan enzim terutama enzim  $\alpha$ -amilase. Jamur ini mempunyai kelebihan dibanding mikrobia yang lain, antara lain bahwa enzim yang dihasilkan telah dimanfaatkan secara luas pada proses pengolahan pangan dan telah berstatus GRAS (Generally Recognized as Safe) dan enzim yang dihasilkan bersifat ekstraselular.

Rosita (2008) mendapatkan *A. oryzae* yang ditumbuhkan pada substrat onggok menghasilkan enzim  $\alpha$ - $\alpha$ -amilase dan glukoo $\alpha$ -amilase dengan kadar masing-masing berturut-turut sebesar 385,14 U/ml dan 222,65 U/ml.

## **BAB 3. METODE PENELITIAN**

### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

#### **3.1.1 Tempat penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

#### **3.1.2 Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2013 hingga Maret 2014.

### **3.2 Bahan dan Alat Penelitian**

#### **3.2.1 Bahan Penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut: air cucian beras putih merk Du'Anak, gula pasir curah, kultur *A. xylinum* dari UD Citra Mandiri Margo Mulyo Jember, kultur *A. oryzae* dari Laboratorium Mikrobiologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, asam cuka pekat 98%, ZA (Amonium Sulfat) dan NPK biru produksi PT Petrokimia gresik.

#### **3.2.2 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah wadah plastik dari botol bekas air mineral berdiameter 8 cm, penutup wadah plastik berupa koran, Colour Reader, Rheotex Type SD-700 Ogawa Seiki, timbangan digital, mistar, Shaker water bath, dan kertas saring.

### **3.3 Metode Penelitian**

#### **3.3.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian dilakukan untuk mempelajari pengaruh konsentrasi gula pasca fermentasi *A. oryzae* dengan variasi lama fermentasi. Faktor yang digunakan yaitu lama fermentasi dengan *A. oryzae* dan konsentrasi gula, dengan 3 kali ulangan.

Faktor A = lama fermentasi *A. oryzae* sebelum fermentasi *A. xylinum*

$A_1 = 24$  jam

$A_2 = 48$  jam

Faktor B = konsentrasi gula pasir

$$B_1 = 0\%$$

$$B_2 = 3\%$$

$$B_3 = 6\%$$

Dari kedua faktor tersebut, maka diperoleh kombinasi perlakuan sebagai berikut  $A_1B_1$ ,  $A_2B_1$ ,  $A_1B_2$ ,  $A_2B_2$ ,  $A_1B_3$ , dan  $A_2B_3$ . Masing-masing kombinasi perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali.

Data hasil penelitian yang didapat diolah secara deskriptif dengan melakukan perhitungan rata-rata serta menghitung standart deviasi dan error. Data disajikan dalam bentuk grafik.

### 3.3.2 Pelaksanaan Penelitian

#### a) Pembuatan Inokulum *A. oryzae*

Inokulum atau starter, dari kultur stok (dari media agar miring) yang telah diremajakan ditumbuhkan dalam media MEB (Malt Extract Broth). Media tersebut dibuat dengan cara melarutkan 7,5 g MEB dengan 50 ml aquades, kemudian disterilkan dengan otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan didinginkan. Sebanyak satu ose kultur stok *A. oryzae* ditumbuhkan dalam media cair MEB dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 35°C dalam shaker waterbath dengan kecepatan 98 rpm.

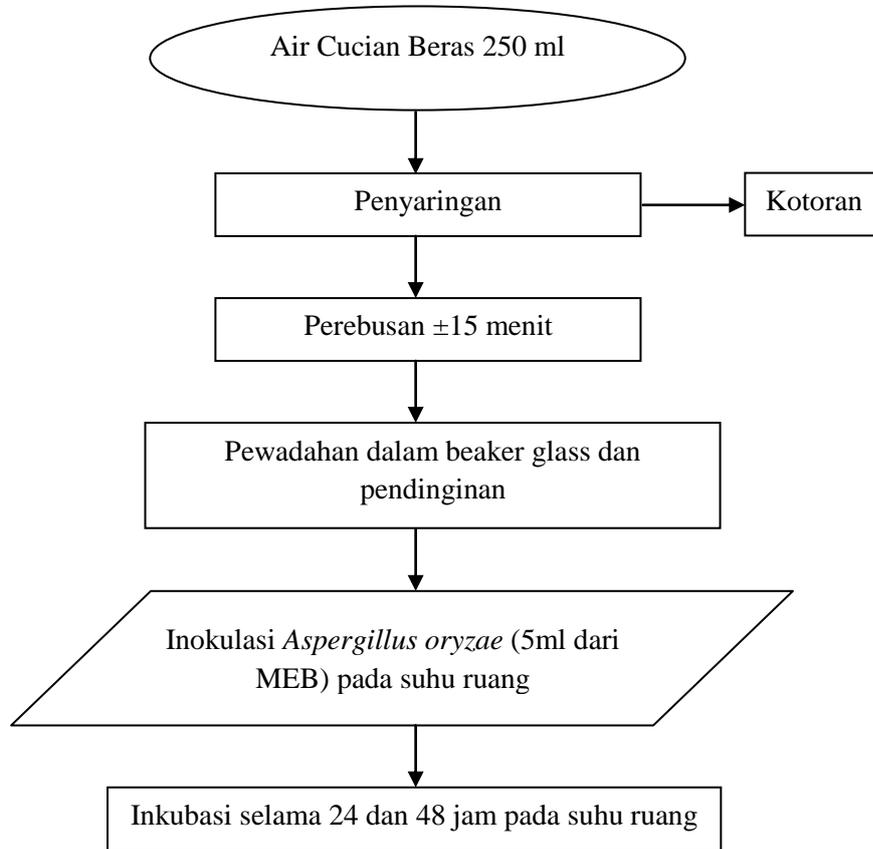
#### b) Pembuatan Starter Nata

Pembuatan starter nata dilakukan dengan cara peremajaan starter nata yang didapat dari UD Citra Mandiri Margo Mulyo. Media untuk peremajaan starter nata dengan merebus air kelapa dengan menambahkan gula 2%, NPK 0,05 %, ZA 0,17% dan asam cuka (98%) 0,5% selama  $\pm$  15 menit dan dimasukkan dalam botol kemudian ditutup, tunggu media hingga dingin. Starter nata dari UD Citra Mandiri Margo Mulyo ditumbuhkan ke dalam media yang telah dibuat dan inkubasi selama 5 hari.

#### c) Prosedur Fermentasi Air Cucian Beras dengan *A. oryzae*

250 ml air cucian beras dituang dalam beaker glass lalu direbus kurang lebih 15 menit atau hingga mendidih. Perebusan ini berfungsi untuk mensterilisasi larutan dari mikroba lain. Setelah didinginkan kemudian ditambahkan inokulum

*A. oryzae* dalam media MEB sebanyak 5 ml. Inkubasi dilakukan selama 24 jam dan 48 jam pada suhu ruang. Diagram alir dapat dilihat pada Gambar 3.2.

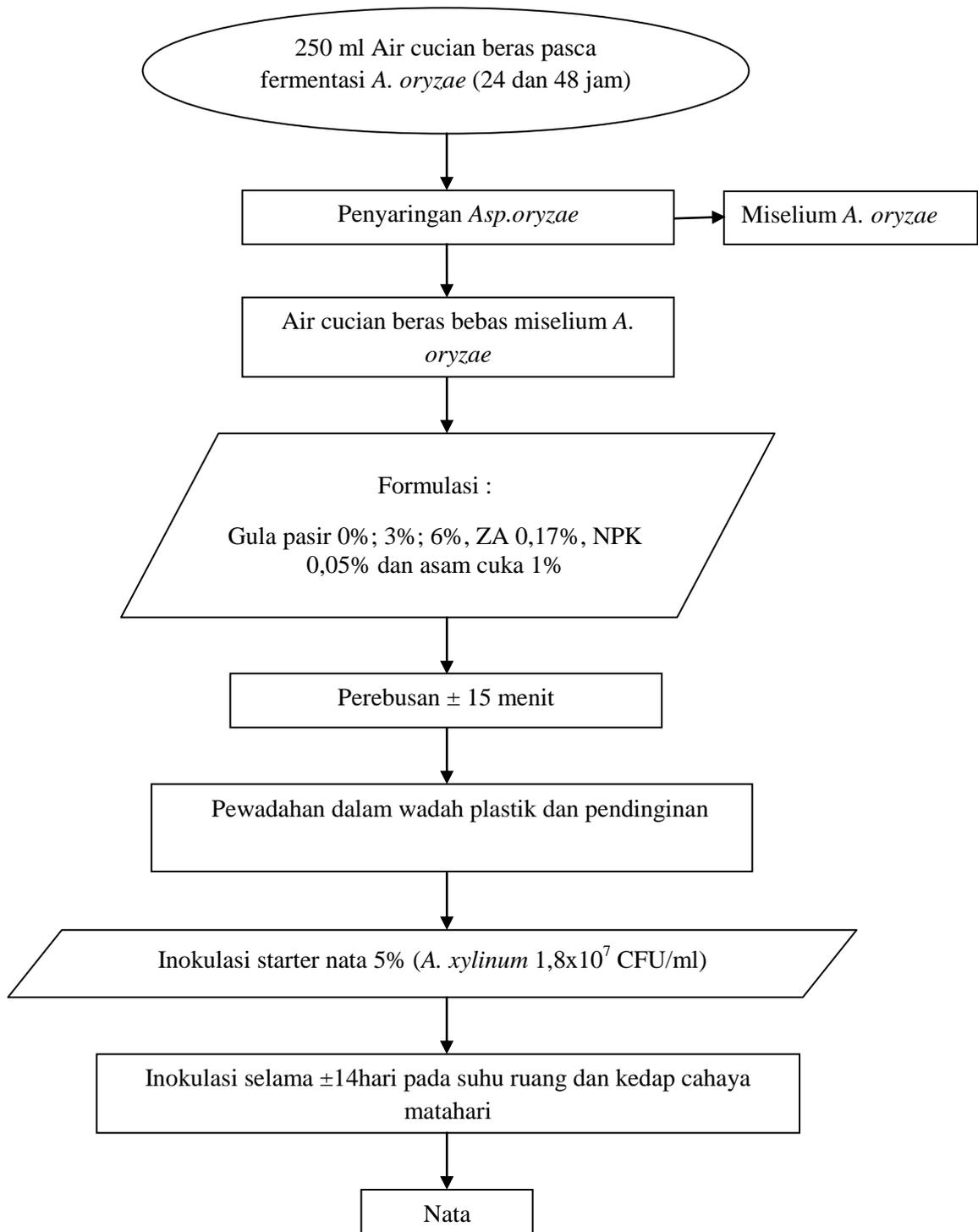


**Gambar 3.2** Diagram alir fermentasi air cucian beras dengan *A. oryzae*

d) Prosedur Pembuatan Nata Air Cucian Beras Pasca Fermentasi oleh *A. oryzae*

250 ml air cucian beras yang telah difermentasi oleh *A. oryzae* selama 24 dan 48 jam dituang dalam beakerglass lalu direbus. Perebusan ini berfungsi untuk untuk mensterilisasi larutan dari mikroba lain sebelum diberi starter *A. xylinum* kemudian ditambahkan gula pasir dengan variasi komposisi 0%, 3%, dan 6% lalu ZA 0,17%, NPK 0,05%, asam cuka pekat (98%) 1%, diaduk hingga merata. Setelah perebusan  $\pm 15$  menit, lalu air cucian beras dipindah ke dalam wadah dan didinginkan. Setelah dingin (harus dalam keadaan dingin, jika pada keadaan panas bakteri akan mati) diinokulasikan starter *A. xylinum* 5% ( $1,8 \times 10^7$  CFU/ml) lalu

ditutup dengan koran agar terlindungi dan mengurangi kontaminasi. Fermentasi berlangsung 14 hari hingga terbentuk nata. Diagram alirnya secara lengkap dapat dilihat pada Gambar 3.4.



**Gambar 3.4** Diagram alir pembuatan nata pasca fermentasi air cucian beras oleh *A. oryzae*

### 3.4 Parameter Analisis

Beberapa parameter yang diamati dari hasil pembuatan nata dari air cucian beras yaitu ketebalan, tekstur, warna dan berat basah dan kadar air cucian beras.

#### a. Kadar glukosa air cucian beras

Kadar glukosa yang dihitung yaitu pada air cucian beras tanpa terfermentasi *A. oryzae*, air cucian beras terfermentasi *A. oryzae* selama 24 jam dan 48 jam. Sebelum melakukan pengukuran terlebih dahulu melakukan kalibrasi alat glucometer dengan melakukan pengukuran glukosa 100 mg, 150 mg, dan 200 mg dan didapat kurva standart.

Kadar glukosa diukur dengan metode enzimatik (glukosa oksidase) menggunakan alat glukometer. Tes strip pada glukometer mengandung bahan kimia glukosa oksidase  $\geq 0,8$  IU; garam naftalen asam sulfat 42  $\mu\text{g}$ ; dan 3-metil-2-benzothiazolin hidrazon. Prinsip kerja penggunaan alat ini yaitu : pada strip terdapat enzim yang secara spesifik bereaksi pada glukosa. Enzim tersebut kemudian akan menyampaikan elektron ke elektroda untuk pengukuran secara elektrokimia dan fotometri (Hones, Muller dan Surrige, 2008).

#### b. Ketebalan nata

Pengukuran ketebalan nata dengan mengukur ketinggian selulosa yang telah dihasilkan *A. xylinum* selama 14 hari. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan penggaris/mistar di 3 titik tepi nata yang berbeda.

#### c. Warna nata (Fardiaz dkk, 1992)

Penentuan warna yang dilakukan dengan sistem  $L^*a^*b$  (CIE Lab. Colour Scale) dengan menyentuh lensa colour reader sedekat mungkin pada permukaan bahan kemudian dihidupkan. Notasi warna L menyatakan kecerahan (lightness) yang berkisar antara 0 – 100 dari hitam ke putih. Intensitas warna sampel ditunjukkan oleh angka yang terbaca oleh colour reader. Pengukuran dilakukan pada setiap sample nata dengan 3 kali ulangan kemudian dilakukan perhitungan rata- rata dari data yang diperoleh. Produk diukur dan diketahui nilai L, a dan b,

d. Tekstur nata

Pengukuran tekstur dilakukan dengan cara bahan diletakkan pada tempat sampel dan kemudian tekan tombol start pada alat Rheotex Type SD-700. Menyalakan tombol power terlebih dahulu dan meletakkan penekan tepat di atas bahan. Kemudian ditekan tombol distance dengan kedalaman 5 mm. Saat pengukuran tekan tombol start, maka jarum penekan bahan bergerak menusuk hingga kedalaman 5 mm. Pembacaan sesuai dengan angka yang tertera pada display dengan satuan dalam gram force/5mm. Pengukuran dilakukan di 3 titik yang berbeda.

e. Berat basah

Pengukuran berat basah nata dilakukan setelah pemanenan dengan meniriskan nata mentah selama  $\pm 3$  menit lalu ukur berat nata dengan menggunakan timbangan digital.

### **3.5 Definisi operasional**

- a) Air cucian beras ialah limbah dari pencucian beras putih merk Du'Anak dari 1 Liter air untuk pencucian 1 kg beras.