

4. PEMBAHASAN

Nata merupakan padatan yang bewarna putih, bersifat tidak larut, bersifat menyerupai gelatin yang merupakan lapisan tipis dari polisakarida dan sel yang dibentuk oleh aktivitas bakteri *A. xylinum* (Medoza, 1961 dalam Nisa *et al.*, 2001). Selama proses pembuatan *nata*, medium atau substrat yang digunakan harus mengandung nutrisi seperti sumber karbon, nitrogen yang cukup dan pada pH yang sesuai supaya bakteri *Acetobacter xylinum* dapat beraktivitas dengan maksimal untuk menghasilkan lapisan selulosa (*nata*) (Pambayun, 2002). Pada penelitian kali ini, dilakukan beberapa analisa pada hasil fermentasi *nata de waluh*. Analisa tersebut meliputi analisa ketebalan, analisa tingkat kekenyalan, uji warna, uji kandungan β -karoten yang terdapat pada *nata de waluh* serta analisa rendemen.

4.1. Analisa Warna *Nata de Waluh*

Analisa warna *nata de waluh* dilakukan dengan alat *chromameter* CR-400 (MacDougall, 2002). Dari hasil uji pada Tabel 2, pada *nata* dengan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau komponen nilai L^* , a^* dan b^* yang lebih rendah dibandingkan *nata* dengan sumber nitrogen *instant yeast*. Hal ini menunjukkan bahwa warna *nata de waluh* dengan tambahan *instant yeast* lebih terang atau lebih cerah dibandingkan *nata de waluh* dengan tambahan sari kecambah kacang hijau. Menurut (Putriana & Aminah, 2013) tebal *nata* dapat mempengaruhi tingkat kecerahan (warna) dari *nata* tersebut, dimana semakin tipis *nata* yang terbentuk maka warna yang dihasilkan akan semakin terang (cenderung ke warna putih). Sedangkan semakin tebal *nata* tersebut maka warna yang dihasilkan akan semakin gelap atau keruh. Sesuai dengan teori, dimana nilai L^* pada *nata* dengan menggunakan sumber nitrogen *instant yeast* lebih terang dibandingkan dengan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau. *Nata* dengan sumber nitrogen *instant yeast* memiliki tebal yang yang lebih rendah dibandingkan *nata* dengan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau. Hal ini menyebabkan secara keseluruhan warna *nata* dengan sumber nitrogen *instant yeast* lebih menarik dan lebih terlihat cerah dibandingkan dengan *nata* dengan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau.

Pada Tabel 3. berdasarkan jumlah konsentrasi N yang ditambahkan, menunjukkan bahwa *nata* dengan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau menunjukkan bahwa nilai L^* yang diperoleh meningkat hingga konsentrasi ke 2 dan mengalami penurunan pada konsentrasi ke 3. Pada *nata* dengan sumber nitrogen *instant yeast* pada konsentrasi ke 2 mengalami penurunan nilai L^* kemudian mengalami peningkatan pada konsentrasi 3. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi N yang semakin tinggi akan menghasilkan *nata* dengan warna yang kurang menarik (gelap). Hal ini dikarenakan peningkatan konsentrasi diduga justru akan menyebabkan penurunan derajat putih dan menurunkan pH medium, sehingga pertumbuhan bakteri akan terganggu dan ion-ion hasil hidrolisis akan menghasilkan warna *nata* yang gelap (Al Awwaly *et al.*, 2011).

Selain itu apabila dilihat dari ketebalan *nata*, ketebalan *nata* meningkat dari konsentrasi 0,262 %N menuju ke konsentrasi 0,393 %N namun mengalami penurunan pada konsentrasi 0,524 %N. Semakin tebal *nata* maka intensitas cahaya yang diserap semakin banyak dan menyebabkan *nata* akan cenderung gelap atau keruh. Berlaku juga sebaliknya dimana semakin tipis *nata* maka intensitas cahaya yang diserap sedikit dan menyebabkan warna semakin terang (Susanti, 2006 dalam Putriana & Aminah, 2013). Namun terjadi sedikit ketidaksesuaian hasil dengan teori, hal ini dapat dikarenakan terdapat kandungan gula yang mengalami *browning* pada saat medium dipanaskan sehingga menyebabkan warna *nata* menjadi lebih gelap (Pambayun, 2002). Selain itu apabila dilihat dari hasil uji kandungan β -karoten, kandungan β -karoten yang terdeteksi pada sangat kecil. Kandungan karotenoid akan mempengaruhi warna dari produk pangan, dimana warna akan semakin orange atau merah atau kuning apabila kandungan karotenoid-nya juga tinggi (Meiliana *et al.*, 2014).

4.2. Analisa Karakteristik Fisik dan Kandungan β -karoten

- **Ketebalan *Nata de Waluh***

Hasil uji ketebalan *nata de waluh* pada Tabel 4, menunjukkan bahwa perbedaan jenis sumber nitrogen yang ditambahkan menghasilkan ketebalan *nata* yang berbeda nyata. Penambahan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau menghasilkan *nata* yang lebih tebal dibandingkan dengan penambahan sumber nitrogen *instant yeast* yaitu sebesar 1,42

$\pm 0,08$ cm. Hasil penelitian ini sesuai dengan pendapat (Afridona, 2006 dalam Fifendy *et al.*, 2011), yang mengatakan bahwa sumber nitrogen yang berasal dari kecambah kacang hijau merupakan sumber nitrogen organik yang baik dibandingkan sumber nitrogen organik lainnya. Selain itu menurut (Thimann, 1962 dalam Palungkun, 1996), Selaput selulosa terbentuk akibat aktivitas bakteri *A. xylinum*, dimana kandungan karbohidrat yang pada substrat akan dipecah menjadi glukosa. Kemudian glukosa akan digunakan sebagai sumber karbon dan akan berikatan dengan asam lemak (guanosin trifosfat). Setelah itu akan membentuk prekursor (penciri *nata*) pada membran sel, kemudian prekursor akan dikeluarkan dalam bentuk ekskresi bersama enzim mempolimerasikan glukosa menjadi jalinan selulosa di luar sel. Menurut Fifendy & Annisah (2012), semakin tinggi kandungan karbohidrat pada medium maka *nata* yang dihasilkan juga akan semakin tebal. Pada kecambah kacang hijau selain terdapat kandungan protein 2,9 gram per 100 gram bahan yang dapat digunakan sebagai sumber nitrogen, juga mengandung karbohidrat sebanyak 4,1 gram per 100 gram bahan (Soeprapto, 2000). Pada *instant yeast* mengandung karbohidrat sebanyak 19 gram per 100 gram bahan. Apabila dilihat dari per 100 gram bahan maka kandungan karbohidrat pada *instant yeast* lebih tinggi. Namun *instant yeast* yang ditambahkan tidak mencapai 100 gram bahan hanya 4 gram, 6 gram dan 8 gram. Sehingga dapat dikatakan kandungan karbohidrat pada sari kecambah kacang hijau lebih tinggi sehingga dapat meningkatkan ketebalan *nata* yang terbentuk dibandingkan *nata* dengan tambahan sumber nitrogen *instant yeast*.

Pada Tabel 5, menunjukkan hasil ketebalan *nata* berdasarkan konsentrasi N yang ditambahkan, dimana baik *nata* dengan penambahan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau maupun *instant yeast* menghasilkan *nata* dengan tingkat ketebalan paling tinggi pada konsentrasi 2 (0,393 %N) dibandingkan konsentrasi N lainnya. Perlakuan berbagai konsentrasi N yang digunakan menunjukkan ada beda nyata antar masing-masing konsentrasi. Jumlah nitrogen memberikan kontribusi terhadap jumlah selulosa dalam layer *nata* yang dihasilkan (Hamad & Kristiono, 2013). Ketika jumlah nitrogen atau ketersediaan nutrisi dalam media terlalu banyak, maka kandungan nutrient yang ada justru akan menghambat pertumbuhan bakteri. Sehingga produksi lapisan selulosa yang dihasilkan tidak akan optimal. Berlaku juga sebaliknya apabila ketersediaan nutrisi tidak mencukupi maka bakteri tidak dapat memproduksi lapisan selulosa secara optimal

(Souisa *et al.*, 2006 dalam Setyaningtyas *et al.*, 2014). Jadi penambahan sumber nitrogen dalam medium dalam jumlah yang sesuai akan menyebabkan mikroorganisme dapat terangsang dengan baik. Sehingga selulosa dapat tersintesa dan *nata* yang dihasilkan mempunyai ikatan selulosa kuat (tidak mudah meluruh) (Yusmarini *et al.*, 2004). Hasil tingkat ketebalan *nata* yang diperoleh juga menunjukkan bahwa ketika konsentrasi N yang ditambahkan terlalu tinggi maka ketebalan *nata* menurun. Selain itu penambahan konsentrasi N diduga menyebabkan kandungan karbon yang terkandung dalam media berbeda-beda. Hal ini menyebabkan hasil ketebalan yang diperoleh juga dipengaruhi oleh kandungan karbon yang ada pada media (Yusmarini *et al.*, 2004).

Secara keseluruhan, *nata de waluh* dengan tingkat ketebalan yang paling tebal adalah dengan menggunakan penambahan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau pada konsentrasi 0,393 %N (174,7 ml sari kecambah kacang hijau) yaitu sebesar 1,45 cm setelah difermentasi selama 14 hari. Proses fermentasi biasanya dilakukan hingga *nata* terbentuk dan mencapai ketebalan yang cukup, yaitu sekitar 1 – 1,5 cm. Ukuran ketebalan tersebut biasanya dicapai setelah 10 hari semenjak diinokulasi dengan starter. Proses fermentasi biasanya paling lama dilakukan selama 15 hari, karena apabila proses fermentasi diteruskan lebih lama lagi maka dapat menyebabkan permukaan *nata* akan rusak akibat mikroba pencemar (Putriana & Aminah, 2013). Hasil ketebalan *nata de waluh* yang diperoleh dari hasil penelitian ini berkisar antara 0,51 – 1,45 cm. Ketebalan *nata de waluh* yang diperoleh ini ada yang lebih kecil dan ada yang lebih besar jika dibandingkan dengan ketebalan *nata de coco* yang berkisar antara 0,94 – 1,17 cm (Haryatni, 2002 dalam Fifendy & Annisah, 2012), sedangkan apabila menurut pendapat Putriana & Aminah (2013) ketebalan *nata de coco* pada umumnya berkisar 1-1,5 cm. Proses penambahan 500 ml air kelapa dan gula sebanyak 30 gram pada semua perlakuan dalam pembuatan *nata de waluh* juga meningkatkan kandungan karbon dalam medium yang diperlukan *A. xylinum* sebagai sumber nutrisi dalam proses pembentukan lapisan selulosa (*nata*) (Hamad *et al.*, 2011).

- **Kekenyalan *Nata de Waluh***

Penambahan jenis sumber nitrogen dan tingkat konsentrasi N yang berbeda-beda dalam pembuatan *nata de waluh* tidak menunjukkan hasil tingkat kekenyalan yang berbeda nyata pada Tabel 4 dan 5. Nilai kekenyalan pada *nata de waluh* dengan menggunakan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau lebih besar dibandingkan dengan *instant yeast* yaitu $1,64 \pm 0,34$ Nmm. Sedangkan berdasarkan konsentrasi N yang digunakan, kekenyalan *nata de waluh* dengan penambahan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau tertinggi ada pada konsentrasi 0,393 %N yaitu sebesar $1,87 \pm 0,26$ Nmm. Sedangkan kekenyalan *nata de waluh* dengan penambahan sumber nitrogen *instant yeast* tertinggi ada pada konsentrasi 0,524 %N yaitu sebesar $1,77 \pm 0,59$ Nmm. Menurut (Afridona, 2006 dalam Fifendy & Annisah, 2012), kekenyalan *nata* akan terbentuk akibat interaksi antara ikatan N dengan prekursor polisakarida yang ada. *Nata* dengan kandungan kadar serat yang tinggi dan mempunyai susunan serat yang rapat, maka akan menghasilkan *nata* dengan terktur yang kenyal. Selain itu *nata* dapat dikatakan semakin kenyal apabila nilai tekstur yang diperoleh semakin rendah, sedangkan apabila nilai tekstur yang diperoleh semakin tinggi maka dapat dikatakan *nata* tersebut mempunyai tekstur yang lunak (Fahnum, 2003 dalam Herawaty & Moulina, 2015).

Sehingga dapat dikatakan bahwa *nata* dengan tambahan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau mempunyai tekstur yang lebih lunak dibandingkan dengan *instant yeast*. *Nata* dengan tekstur yang lunak (kurang kenyal) terjadi karena pada serat-serat *nata* yang terbentuk terdapat rongga-rongga yang longgar sehingga air dapat lebih mudah masuk (Herawaty & Moulina, 2015). Menurut Widia (1984), kekenyalan *nata* dapat menurun akibat pada ikatan antar unsur N dengan prekursor polisakarida memiliki struktur polimer longgar. Jadi meskipun kandungan N mampu meningkatkan jumlah serat, namun struktur yang longgar akan mengakibatkan kekenyalan pada *nata* jadi rendah. Secara keseluruhan dapat dikatakan bahwa *nata* dengan tambahan sumber nitrogen *instant yeast* pada tingkat konsentrasi 0,262 %N merupakan *nata* dengan tingkat kekenyalan paling kenyal dibandingkan lainnya. Hal ini dikarenakan selulosa terbentuk dengan rapat sehingga air tidak dapat dengan mudah masuk ke dalam rongga-rongga pelikel dan menyebabkan tekstur *nata* menjadi lebih kenyal (Herawaty & Moulina, 2015). Akan tetapi dalam

penelitian ini perbedaan jenis sumber nitrogen dan konsentrasi N yang ditambahkan tidak berpengaruh terhadap tingkat kekenyalan karena hasil data yang diperoleh tidak berbeda nyata. Selain itu tekstur nata juga dipengaruhi oleh kandungan karbon dan nitrogen yang ada dalam media, dimana jumlah antara kandungan karbon dan nitrogen harus berada pada rasio yang sesuai. Menurut Pambayun (2002), rasio karbon dan nitrogen (C/N) yang ada dalam media harus mencapai hingga 20. Jika rasio C/N menyimpang jauh dari 20, maka tekstur nata yang dihasilkan akan menjadi susah digigit atau bahkan mudah hancur.

- **Kandungan β -karoten pada *Nata de Waluh***

Berdasarkan hasil penelitian kandungan β -karoten pada *nata de waluh* berdasarkan jenis sumber nitrogen yang digunakan (Tabel 4) menunjukkan ada beda nyata antar jenis sumber nitrogen yang digunakan. *Nata* dengan sumber nitrogen sari kecambah kacang hijau mempunyai kandungan β -karoten lebih tinggi dibandingkan *nata* dengan sumber nitrogen *instant yeast* yaitu sebesar $5,33 \pm 0,37 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ bahan. Pada Tabel 5, semakin tinggi penambahan konsentrasi N, maka kandungan β -karoten yang terdeteksi juga semakin tinggi. Hal ini dikarenakan selain kandungan β -karoten yang sudah ada pada sari labu kuning, pada kecambah kacang hijau mengandung vitamin A sebesar 10 IU (Soeprapto, 2000) sedangkan pada *instant yeast* tidak terdapat kandungan vitamin A. Sehingga kandungan vitamin A yang ada pada kecambah kacang hijau mampu meningkatkan kandungan β -karoten yang ada pada *nata de waluh*. Selain itu kacang hijau juga mempunyai aktivitas antioksidan tertinggi dibandingkan kacang-kacangan lainnya dan mengandung senyawa-senyawa fungsional seperti β -karoten dan polifenol (Mokgope, 2006 dalam Supriyono, 2008).

Hasil analisa kandungan β -karoten dapat dilihat bahwa nilai yang diperoleh sangat kecil apabila dibandingkan dengan kandungan β -karoten pada buah labu kuning segar. Pada buah labu kuning segar mengandung $1079,6 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ bahan (Usha *et al.*, 2010). Perbedaan kandungan beta karoten yang jauh ini dikarenakan beberapa faktor yaitu, selama proses pembuatan *nata de waluh* medium dipasteurisasi pada suhu 80°C selama 30 menit, dimana proses pasteurisasi ini dilakukan untuk membunuh bakteri atau mikroorganisme perusak yang terdapat dalam bahan pangan atau medium dengan suhu

yang digunakan kurang dari atau sama dengan 100°C supaya tidak mengganggu proses pembentukan nata oleh aktivitas bakteri *A. xylinum* (Lawrie, 1985). Proses pemanasan pada suhu 65°C-95°C akan membuat struktur β -karoten menjadi tidak stabil sehingga bentuk dari isomernya akan berubah dan menyebabkan penurunan kadar β -karoten sebanyak 20,47% (Ikhsani & Susanto 2015). Waktu yang cukup lama dalam pemanasan suhu tinggi juga menyebabkan kandungan β -karoten tidak stabil dan terdegradasi akibat stereoisomer banyak yang berubah (Wahyuni & Widjanarko, 2015). Faktor berikutnya adalah selama proses pemanasan juga tersedia oksigen. Menurut Andarwulan & Koswara (1992), semua jenis provitamin A stabil terhadap panas dalam keadaan bebas oksigen dan sensitif terhadap fotooksidasi. Adanya oksigen dapat memicu terjadinya oksidasi sehingga kadungan karotenoid dapat terdegradasi. Selain itu berdasarkan uji warna *nata de waluh* yang dihasilkan juga tidak mempunyai warna kuning maupun merah yang kuat, hal ini dikarenakan terjadi aktivitas degradasi dan oksidasi kandungan β -karoten sehingga warna pada bahan pangan mengalami pemucatan (Ginting, 2013).

Kebutuhan vitamin A dalam tubuh dinyatakan dalam SI (satuan internasional). Untuk menentukan nilai vitamin A dalam manusia, digunakan standar Retinol Ekuivalen (RE). Satu RE vitamin A setara dengan 1 μg retinol dan 6 μg β -karoten (Andarwulan & Koswara, 1992). Dari hasil penelitian, *nata* dengan sari kecambah kacang hijau pada konsentrasi 0,524 %N mempunyai kandungan β -karoten tertinggi sebesar $5,65 \pm 0,18$ $\mu\text{g}/100$ gram bahan. Nilai tersebut setara dengan 0,942 RE vitamin A yang diserap dalam tubuh. Menurut AKG (2013), asupan harian vitamin A yang dibutuhkan adalah 375-500 μg (62,5-83,3 RE) untuk bayi atau anak-anak, 600 μg (100 RE) untuk laki-laki dan 500-600 μg (83,3-100 RE) untuk wanita.

4.3. Rendemen pada *Nata de Waluh*

Berdasarkan Tabel 6, menunjukkan bahwa jenis nitrogen dan perbedaan konsentrasi N yang ditambahkan berpengaruh terhadap nilai rendemen yang dihasilkan selama proses pembentukan *nata de waluh*. Substrat atau media yang ditambah dengan sumber nitrogen jenis sari kecambah kacang hijau memiliki nilai rendemen lebih tinggi dibandingkan dengan sumber nitrogen jenis *instant yeast*. Hal ini menunjukkan bahwa pada perlakuan penambahan sumber nitrogen jenis sari kecambah kacang hijau dapat memenuhi

kebutuhan nutrisi bakteri *A. xylinum* secara optimal. Sehingga aktivitas bakteri selama proses pembentukan lapisan selulosa *nata de waluh* baik dan menghasilkan rendemen yang cukup tinggi. Selain itu apabila dihubungkan dengan ketebalan *nata* yang terbentuk, pada *nata* dengan tambahan sumber nitrogen jenis kecambah kacang hijau juga lebih tebal dibandingkan dengan sumber nitrogen *instant yeast*. Hal ini sesuai dengan pendapat dari Yusmarini *et al.*, (2004) yang mengatakan bahwa nilai rendemen akan berbanding lurus dengan tebal *nata*. Semakin tebal *nata* maka nilai rendemen yang dihasilkan juga akan tinggi.

Pada Tabel 6 juga dapat dilihat bahwa nilai rendemen *nata* meningkat sampai dengan konsentrasi 2 (0,393 %N) mengalami peningkatan, kemudian peningkatan konsentrasi N menyebabkan penurunan rendemen. Sumber nitrogen baik dari bahan organik maupun non organik apabila tersedia cukup dalam substrat atau media maka akan membantu proses pertumbuhan bakteri *A. xylinum* dalam proses pembentukan *nata*. Namun apabila nutrisi yang tersedia dalam substrat terlalu banyak maka nutrisi tersebut akan menghambat proses pertumbuhan bakteri *A. xylinum* sehingga lapisan selulosa yang dihasilkan tidak akan optimal. Berlaku juga sebaliknya apabila kandungan nutrisi tidak tersedia cukup, maka bakteri tidak dapat berkerja secara optimal dan lapisan selulosa yang dihasilkan juga tidak akan optimal (Edria *et al.*, 2009 dalam Yuda, 2012).

Sumber nutrisi yang berlebih menyebabkan peningkatan viskositas media sehingga terjadi penurunan kelarutan oksigen (Ernawati, 2012). *A. xylinum* merupakan bakteri yang bersifat aerob obligat. Sehingga ketika suplai oksigen yang dibutuhkan bakteri berkurang maka pertumbuhannya terhambat dan dapat menyebabkan kematian (Pambayun, 2002). Sehingga penambahan konsentrasi N yang digunakan harus sesuai agar tidak menyebabkan media fermentasi terlalu keruh, kemudian suplai oksigen tercukupi dan proses pertumbuhan *A. xylinum* dapat berkerja secara optimal dalam membentuk lapisan selulosa.

Faktor lain yang mempengaruhi rendemen yang dihasilkan adalah wadah yang digunakan selama proses fermentasi. Wadah yang mempunyai permukaan luas akan membuat proses sirkulasi udara berjalan dengan baik, sehingga proses fermentasi dapat berlangsung baik

dan bakteri *nata* tumbuh secara optimum. Hal ini menyebabkan proses fermentasi yang dilakukan pada wadah dengan permukaan luas akan menghasilkan rendemen *nata* lebih besar dibandingkan menggunakan wadah dengan permukaan yang sempit (Syukroni *et al.*, 2013). Selain itu selama proses pembentukan *nata*, tidak hanya ketersediaan sumber nitrogen yang dibutuhkan namun ketersediaan sumber karbon juga dibutuhkan. Sehingga dalam proses pembuatan *nata de waluh*, sumber karbon diperoleh dari penambahan gula dan air kelapa. Air kelapa merupakan salah satu sumber substrat yang baik bagi bakteri *A. xylinum* selama proses fermentasi. Hal ini dikarenakan terdapat kandungan gula sebesar 7-10%, asam amino, protein, vitamin serta mineral pada air kelapa (Widayati *et al.*, 2002). Kandungan gula yang terkandung pada substrat akan dirubah menjadi substansi menyerupai gel pada permukaan cairan fermentasi (Tamini *et al.*, 2015) sehingga lapisan selulosa yang terbentuk akan semakin tinggi dan nilai rendemen juga semakin tinggi.

