

SKRIPSI

PENGARUH VARIASI pH CAIRAN FERMENTASI DAN
KONSENTRASI SARI KECAMBAH KACANG HIJAU PADA
FERMENTASI WHEY OLEH *Acetobacter xylinum* TERHADAP
KETEBALAN DAN SIFAT ORGANOLEPTIK
NATA DE MILKO



OLEH :

DYAH WAHYUNING ASPRIATI

KERTOSONO - JAWA TIMUR

**FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
S U R A B A Y A
1 9 9 8**

**PENGARUH VARIASI pH CAIRAN FERMENTASI DAN KONSENTRASI
SARI KECAMBAH KACANG HIJAU PADA FERMENTASI WHEY
OLEH *Acetobacter xylinum* TERHADAP KETEBALAN DAN
SIFAT ORGANOLEPTIK *NATA DE MILKO***

Skripsi sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan
pada
Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga

Oleh

DYAH WAHYUNING ASPRIATI

NIM 069311948

Menyetujui,
Komisi Pembimbing,



(Soetji Prawesthirini, SU., Drh)
Pembimbing Pertama



(Soelistayingwati G., Drh)
Pembimbing Kedua


Setelah mempelajari dan menguji dengan sungguh-sungguh, kami berpendapat bahwa tulisan ini baik ruang lingkup maupun kualitasnya dapat diajukan sebagai skripsi untuk memperoleh gelar SARJANA KEDOKTERAN HEWAN.

Menyetujui,

Panitia Penguji,


Garry Cores de Vries, M. Sc., Drh

Ketua



Suryanie, M. Kes., Drh

Sekretaris



Ngakan Made Rai Widjaya, M.S., Drh

Anggota



Soetji Prawesthirini, SU., Drh

Anggota



Soelistyaningwati G., Drh

Anggota

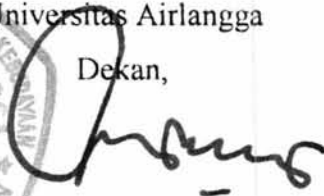
Surabaya, 7 September 1998

Fakultas Kedokteran Hewan

Universitas Airlangga

Dekan,




Dr. Ismudiono, M.S., Drh

PENGARUH VARIASI pH CAIRAN FERMENTASI DAN KONSENTRASI SARI KECAMBACH KACANG HIJAU PADA FERMENTASI WHEY OLEH *Acetobacter xylinum* TERHADAP KETEBALAN DAN SIFAT ORGANOLEPTIK *NATA DE MILKO*

Dyah Wahyuning Aspriati

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah whey dapat diolah menjadi *nata de milko* dengan menggunakan *A. xylinum* sebagai starter dan bagaimana pengaruh pH cairan fermentasi, konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan organoleptik *nata de milko*.

Starter sebanyak 10% diinokulasikan ke dalam cairan fermentasi yang terdiri dari whey, gula pasir dan sari kecambah kacang hijau dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 10% dan 20%, dengan pH awal fermentasi berbeda yaitu 3,4,5,dan 6. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap faktorial 2x4. Parameter yang diamati adalah ketebalan dan uji organoleptik (kekenyalan, warna dan kesukaan). Data ketebalan dianalisis dengan uji F 5%, jika berbeda nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil 5%, untuk data organoleptik dikonversi menurut metode Fisher dan Yates selanjutnya dianalisis menggunakan uji F 5% apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa whey dapat digunakan sebagai cairan fermentasi pada pembuatan *nata de milko* dengan menggunakan *A. xylinum* sebagai starter. Ketebalan *nata* tertinggi diperoleh dari cairan fermentasi dengan pH 4 sedangkan pH 6 menghasilkan ketebalan *nata de milko* terendah, demikian juga dengan kekenyalan dan kesukaannya. Perbedaan pH cairan fermentasi tidak memberikan perbedaan warna *nata de milko* yang dihasilkan. Perbedaan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak memberikan perbedaan pada ketebalan, kekenyalan, warna dan kesukaan *nata de milko* demikian juga dengan interaksinya dengan pH cairan fermentasi.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah swt atas selesainya penyusunan dan penulisan tulisan yang merupakan salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga yang telah memberikan saran serta dorongan moral dalam penelitian ini.
2. Soetji Prawesthirini, S.U.,Drh. selaku pembimbing pertama dan Soelistyaningwati G.,Drh selaku pembimbing kedua atas segala bantuan, bimbingan, saran serta nasehat sejak awal penelitian sampai selesainya penelitian, sehingga keseluruhannya berjalan dengan baik.
3. Kepala Laboratorium Kesehatan Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan untuk menggunakan segala fasilitas laboratorium selama penelitian.
4. Seluruh staf dan karyawan laboratorium Kesehatan Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.
5. Ayah, kakak-kakak dan adikku Erna tercinta, serta rekan-rekanku, juga Mas Pras, Mas Kaffi dan Anang yang dengan ketulusan hati memberikan bantuan dan dorongan moral dan semua pihak yang telah memebantu hingga terselesaikannya penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan bagi pengembangan dan pengetahuan serta menambah informasi bagi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Akhirnya penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik dari semua pihak sangat penulis harapkan.

Surabaya, Agustus 1998

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang Penelitian	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	5
1.4. Landasan Teori	5
1.5. Hipotesis	6
1.6. Manfaat Penelitian	7
II. TUJUAN PENELITIAN	8
2.1. Whey	8
2.2. <i>Acetobacter xylinum</i>	10
2.2.1. Taxonomi	10
2.2.2. Morfologi dan Karakteristik	11
2.3. Nata	13
2.4. Kacang Hijau	17
2.4.1. Taxonomi dan Morfologi	17
2.4.2. Kegunaan	18
III. MATERI DAN METODE	21
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	21
3.2. Materi Penelitian	21
3.2.1. Bahan Penelitian	21
3.2.2. Peralatan Yang Digunakan	21
3.3. Metode Penelitian	22
3.3.1. Cara Kerja	22
3.4. Rancangan Penelitian	24

3.5. Parameter Pengamatan.....	25
3.5.1. Pengukuran Ketebalan.....	25
3.5.2. Uji Organoleptik.....	25
3.6. Analisis Data.....	26
IV. HASIL PENELITIAN.....	27
4.1. Ketebalan <i>Nata de Milko</i>	27
4.2. Uji Organoleptik.....	28
4.2.1. Kekenyalan.....	28
4.2.2. Warna.....	29
4.2.3. Kesukaan.....	30
V. PEMBAHASAN.....	32
5.1. Ketebalan <i>Nata de Milko</i>	32
5.2. Uji Organoleptik.....	35
5.2.1. Kekenyalan <i>Nata de Milko</i>	35
5.2.2. Warna <i>Nata de Milko</i>	36
5.2.3. Kesukaan <i>Nata de Milko</i>	36
VI. KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
6.1. Kesimpulan.....	38
6.2. Saran.....	39
RANGKUMAN.....	40
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR TABEL

Nomor		Halaman
1.	Komposisi Susu, Whey dari Susu yang Digumpalkan dan Whey dari Limbah Keju (%)	9
2.	Komposisi Biji Kacang Hijau	19
3.	Skala Hedonik dan Skala Numerik <i>Nata de Milko</i>	26
4.	Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Ketebalan <i>Nata de Milko</i>	28
5.	Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Kekenyalan <i>Nata de Milko</i>	29
6.	Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Warna <i>Nata de Milko</i>	30
7.	Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Kesukaan <i>Nata de Milko</i>	31

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Cara Pembuatan Starter <i>A. xylinum</i>	22

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang Penelitian

Komoditi susu telah mendapat perhatian yang cukup besar dari pemerintah. Selama ini telah dilakukan intensifikasi peternakan sapi perah untuk meningkatkan produksi susu, mengingat produksi susu di Indonesia masih belum optimal dan tingkat konsumsi susu masyarakat masih rendah, padahal susu merupakan bahan nutrisi yang bergizi tinggi. Hampir semua zat-zat makanan yang diperlukan oleh tubuh terkandung di dalam susu, seperti lemak, protein, karbohidrat, vitamin A, B₁, B₂, B₆, niasin, asam pantotenat, vitamin C, D, E, dan K. Susu juga mengandung mineral-mineral seperti Na, Ca, P, S, K, sebagian kecil Fe, Cu, Zn, Al, serta trace elemen seperti Si, B, Ti, V dan lain-lain (Eckles dkk., 1994).

Sebagian besar produksi susu nasional diserap oleh industri pengolahan susu untuk diolah menjadi susu olahan (Irianah, 1994), seperti susu instant, susu kental manis, es krim, yogurt, mentega, dan keju. Menurut Eckles dkk. (1994) industri keju menempati urutan ketiga dalam industri pengolahan susu yaitu sebesar 9,3 % setelah butter cream dan susu instant.

Pada industri pengolahan susu, industri keju menempati urutan terbesar dalam menghasilkan limbah. Setiap 100 pound susu hanya 10 pound yang menjadi keju, sedang sisanya 90 pound merupakan limbah yang sering disebut dengan whey (Eckles dkk., 1994). Pengolahan keju dunia yang menghasilkan

sekitar 74 juta ton whey (dengan kandungan 1,2 juta ton laktosa dan 0,2 juta ton protein susu) hanya 25 % yang dimanfaatkan untuk manusia dan hewan, sedang sisanya dibuang (Crueger dan Crueger, 1990).

Semakin pesatnya pembangunan dan pertumbuhan industri di Indonesia, suatu saat dimasa yang akan datang industri pengolahan keju juga akan semakin berkembang. Whey sebagai produk sampingan keju akan menjadi masalah yang perlu dipikirkan pemanfaatannya. Pada dasarnya di dalam whey masih terkandung beberapa nutrisi seperti laktosa, lemak, protein, mineral dan vitamin (Eckles dkk., 1994). Selama ini whey dimanfaatkan sebagai suplemen gandum atau jagung untuk makanan ternak, whey keju (cheese whey), es krim, campuran roti dan permen serta pembuatan gula susu (Eckles dkk., 1994). Proses pemanfaatan menjadi produk-produk tersebut cukup rumit dan memerlukan banyak biaya serta tenaga ahli, maka perlu diusahakan alternatif pengolahan whey menjadi bentuk yang lebih bermanfaat dengan cara sederhana sehingga dapat diterapkan di industri pengolahan keju maupun oleh masyarakat petani peternak, khususnya di daerah penghasil susu.

Fermentasi adalah suatu proses perubahan kimiawi dari senyawa-senyawa organik lain melalui kerja enzim yang dihasilkan mikroba (Ganjar, 1983). Winarno dan Laksmi (1982), mengatakan bahwa proses fermentasi adalah memperbanyak jumlah mikroba dan menggiatkan metabolismenya didalam makanan, tetapi jenis mikroba yang digunakan sangat terbatas sesuai dengan hasil akhir yang dikehendaki.

Dalam industri pengolahan susu, susu fermentasi dihasilkan dengan cara menginokulasikan suatu biakan mikroorganisme (*starter cultur*) yang dapat menghasilkan produk fermentasi yang baik dan seragam (Pelczar dan Chan, 1988).

Nata merupakan suatu lapisan putih, transparan, berbentuk padat dan rasanya mirip kolang-kaling biasanya dikonsumsi sebagai campuran es krim, cocktail buah atau sirup. *Nata de coco* sudah dikenal di Philipina karena dapat menjadi sumber keuntungan ekonomi dan meningkatkan pendapatan penduduk.

Di Indonesia telah dilakukan penelitian tentang fermentasi *nata* dari air kelapa *nata de coco*, limbah nanas *nata de pina*, dari jambu mete *nata de cashew* dan dari limbah tahu *nata de soya* dengan menggunakan *Acetobacter xylinum* sebagai starter yang kemudian dapat digunakan oleh masyarakat sebagai bahan makanan (Jesus dkk., 1971, Judoamidjoyo dkk., 1989). Proses pembuatan *nata* relatif mudah, serta tidak membutuhkan biaya yang mahal, sehingga industri *nata* ini dapat dikembangkan sebagai industri rumah tangga (Suliantari, 1996).

Pada proses fermentasi pembuatan *nata*, daya kerja *A.xylinum* memerlukan sumber tenaga atau sumber karbon yang berasal dari sukrosa. Menurut Alaban (1962) dan Dimaguila (1967) penambahan gula pasir dan biakan *A. xylinum* kedalam air kelapa dapat menghasilkan *nata* yang berlimpah-limpah.

Mengingat whey masih banyak mengandung nutrisi terutama karbohidrat yang berupa laktosa, maka dimungkinkan whey dapat diolah menjadi *nata* dengan metode seperti pembuatan *nata de coco*, *nata de pina*, *nata de cashew*, maupun *nata de soya* yaitu dengan menggunakan *A. xylinum* sebagai starter. *A. xylinum*

mampu merubah laktosa menjadi selulosa, membentuk lapisan yang kenyal serta banyak mengandung serat kasar.

Pada pembuatan *nata*, selain dari cairan fermentasi untuk pertumbuhan *A. xylinum* dan pembentukan *nata*, masih diperlukan pengaturan kondisi fermentasi antara lain pH yang optimum dan penambahan nutrisi lain (Alaban, 1962) guna menunjang terbentuknya *nata* yang lebih tebal dan berkualitas .

Sari kecambah kacang hijau dapat digunakan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan *A. xylinum* (Rahayu dkk, 1993) karena mempunyai kandungan gizi yang cukup tinggi dan komposisinya lengkap (Rukmana, 1997).

Berdasarkan pengaturan kondisi *A. xylinum* tersebut, maka penelitian ini bermaksud untuk mengetahui pH optimum untuk pertumbuhan *A. xylinum* dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau guna menunjang terbentuknya *nata* yang lebih tebal dan lebih disukai secara organoleptik.

1.2. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan dalam penelitian ini, yaitu :

1. Apakah mungkin dilakukan pengolahan whey menjadi *nata* (selanjutnya disebut *nata de milko*) dengan menggunakan *A. xylinum* sebagai starter.
2. Bagaimana pengaruh pH cairan fermentasi terhadap ketebalan dan sifat organoleptik *nata de milko*.
3. Bagaimana pengaruh konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan sifat organoleptik *nata de milko*.

4. Apakah terdapat interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan organoleptik *nata de milko*.

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang hendak dicapai dalam penelitian ini adalah :

1. Untuk mengetahui bahwa whey dapat diolah menjadi *nata* (selanjutnya disebut *nata de milko*) dengan menggunakan *A. xylinum* sebagai starter.
2. Untuk mengetahui pengaruh pH cairan fermentasi terhadap ketebalan dan organoleptik *nata de milko*.
3. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan organoleptik *nata de milko*.
4. Untuk mengetahui apakah terdapat interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan organoleptik *nata de milko*.

1.4. Landasan teori

Whey merupakan limbah industri keju yang masih mengandung laktosa, protein, mineral, lemak dan vitamin (Eckles dkk., 1994). Kandungan nutrisi ini memungkinkan whey digunakan sebagai cairan fermentasi oleh *A. xylinum*.

Pada fermentasi oleh *A. xylinum* akan terbentuk rajutan selulosa yang memanjang, bergabung dan mengapung di permukaan cairan fermentasi yang disebut *nata* (Suliantari, 1996). Proses fermentasi tersebut membutuhkan kondisi

yang sesuai untuk pertumbuhan *A. xylinum* meliputi pH, suhu, sumber karbon, maupun nutrisi lainnya serta tidak adanya kontaminasi (Surtiningsih, 1997).

Menurut Frazier (1974) *A. xylinum* dalam pertumbuhannya memerlukan kondisi yang optimum yaitu dalam medium harus cukup terkandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri, sumber glukosa sebanyak 10%-20%, asam cuka glasial 2%-5%, pH cairan fermentasi bakteri antara 4-4,5 dan jumlah inokulat yang digunakan 10%-20% dari volume cairan fermentasi. Rukmana (1997) mengatakan bahwa kecambah kacang hijau mengandung nutrisi yang cukup baik untuk pertumbuhan *A. xylinum*, karena kandungan gizinya cukup tinggi dan komposisinya lengkap.

1.5. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan, landasan teori dan tujuan penelitian yang telah disebutkan, maka hipotesis dalam penelitian ini adalah :

1. Terdapat perbedaan ketebalan, dan organoleptik *nata de milko* pada pH cairan fermentasi yang berbeda.
2. Terdapat perbedaan ketebalan dan organoleptik *nata de milko* pada konsentrasi sari kecambah kacang hijau yang berbeda.
3. Terdapat interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan organoleptik *nata de milko*.

1.6. Manfaat Penelitian

Dengan semakin pesatnya pembangunan dan pertumbuhan industri dewasa ini masalah pembuangan limbah industri juga perlu dipikirkan agar tidak mencemari lingkungan. Penelitian mengenai alternatif pemanfaatan whey sebagai *nata de milko* ini semoga dapat memberikan informasi mengenai pengaruh kombinasi terbaik antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan sifat organoleptik yang disukai konsumen sehingga dapat memberikan nilai tambah bagi masyarakat . Disamping itu dapat juga sebagai industri rumah tangga pada daerah-daerah yang produksi susunya berlimpah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Whey

Whey merupakan produk sampingan dari industri keju, (Crueger dan Crueger, 1992), yang diperkirakan 90% adalah whey (Eckles dkk., 1994). Pada pembuatan keju, whey terbentuk setelah susu ditambahkan rennet, sehingga akan terbentuk curd yang selanjutnya difermentasi menjadi keju sedangkan cairan yang tertinggal adalah whey, selain itu whey bisa didapat dari susu rusak. Pada susu rusak biasanya akan terjadi penggumpalan berwarna putih salju di bagian atas yang sering disebut sebagai kepala susu dan bagian cair di bawahnya adalah whey. Selain kedua cara di atas whey dapat pula dihasilkan dengan menambahkan zat asam untuk menggumpalkan kasein (Eckles, 1994).

Lampert (1970) mengatakan bahwa protein susu dibagi menjadi dua kelompok utama yaitu kasein yang dapat diendapkan oleh asam dan enzim renin serta whey protein yang dapat mengalami denaturasi oleh panas pada suhu sekitar 65°C. Selain itu Buckle dkk. (1978) mengemukakan bahwa whey protein terdiri dari laktalbumin dan laktoglobulin. Proses pasteurisasi tidak merubah penyebaran kasein, sedangkan laktalbumin mudah sekali diendapkan melalui pemanasan. Homogenisasi susu menyebabkan sebagian partikel-partikel kasein menyatu dengan butiran lemak.

Zat terlarut dalam susu sebagian besar terdapat pada whey, yaitu sekitar 42-44 % dari total zat terlarut yang terdiri dari laktosa, protein, mineral, lemak dan vitamin. (tabel 1).

Tabel 1. Komposisi Susu, Whey dari Susu yang Digumpalkan dan Whey dari Limbah Keju (%).

Kandungan	Susu Sapi Murni*	Susu yang Digumpalkan**	Limbah Keju***
BK	12,9		6,36
Air	87,1	48,1	93,7
Lemak	3,9	2,4	0,5
Protein	3,4	7,6	0,8
Laktosa	4,8	38,5	4,85
Mineral	0,72	4,0	0,5

Keterangan : * Buckle dkk., 1978.

** Anonimus, 1965

***Webb dan Johnson., 1965

Kandungan lemak whey lebih tinggi dibandingkan dengan susu skim. Pada pembuatan mentega, laktosa akan terkandung dalam susu skim, sedang pada pembuatan keju bagian terbesar laktosa terikat pada whey (Eckles dkk., 1994).

Whey masih mengandung beberapa zat nutrisi yang merupakan media subur bagi pertumbuhan mikroorganisme, maka diperkirakan whey tidak tahan lama. Hingga sekarang belum diketahui sejauh mana daya tahan whey.

Faktor - faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dalam bahan pangan dapat bersifat fisik, kimia atau biologis (Nurwantoro, 1997).

Faktor - faktor tersebut meliputi :

1. Faktor intrinsik, merupakan sifat - sifat fisik, kimia, dan struktur yang dimiliki oleh bahan pangan itu sendiri.
2. Faktor ekstrinsik, yaitu kondisi lingkungan pada penanganan dan penyimpanan bahan pangan, seperti kelembaban, susunan gas di atmosfer.
3. Faktor implisit, yang merupakan sifat - sifat yang dimiliki oleh mikroba itu sendiri. Faktor ini sangat dipengaruhi oleh susunan biotik mikroba dalam bahan pangan.
4. Faktor pengolahan, karena perubahan mikroba awal sebagai akibat pengolahan pangan (misalnya pemanasan, pendinginan, irradiasi, penambahan bahan pengawet).

2.2. *Acetobacter xylinum*

2.2.1. Taxonomi

Menurut Krieg dan John (1984), *A. xylinum* termasuk dalam *phylum* *Thallophita*, *klas* *Scizomycetes*, *ordo* *Acetobacterae*, *famili* *Acetobacteraceae*, *genus* *Acetobacter*, *species* *A. aceti* dan *sub-species* *A. xylinum*

2.2.2. Morfologi dan Karakteristik

Sel dari *A. xylinum* ini berbentuk bulat panjang sampai batang, berujung lurus atau tumpul. Ukuran 0,6 - 0,8 μm sampai 1,0 - 3,0 μm . Ditemukan soliter (tunggal), berpasangan, kadang membentuk rantai bulat panjang. Ada yang bersifat motil ada yang tidak motil. Bakteri yang motil mempunyai flagela peritrikus atau lateral. Tidak mempunyai endospora, sel - sel muda gram negatif

beberapa sel tua gram variabel, obligat aerob, koloni pucat, katalase positif, oksidase negatif, mampu mengoksidasi etanol menjadi asam asetat, selanjutnya asam asetat dan laktat dioksidasi menjadi CO₂ dan H₂O (Rahayu.dkk, 1993). Sumber karbon terbaik untuk pertumbuhan *A. xylinum* adalah etanol, gliserol, dan laktat. Tumbuh pada medium sederhana dan kompleks (Krieg dan John, 1984).

A. xylinum mampu membentuk asam dari n-propanol, n-butanol, dan D-glukosa. Temperatur optimum bagi pertumbuhan bakteri ini adalah 25 - 30 °C. *A.xylinum* didapatkan pada bunga, buah - buahan, madu tawon, *sake*, *tequila*, *anggur palm*, *anggur grape*, *kefir*, bir, ragi bir, cuka, *juice* gula tebu, *tea fungus*, *nata*, tanah kebun, dan air kanal (Krieg dan John, 1984).

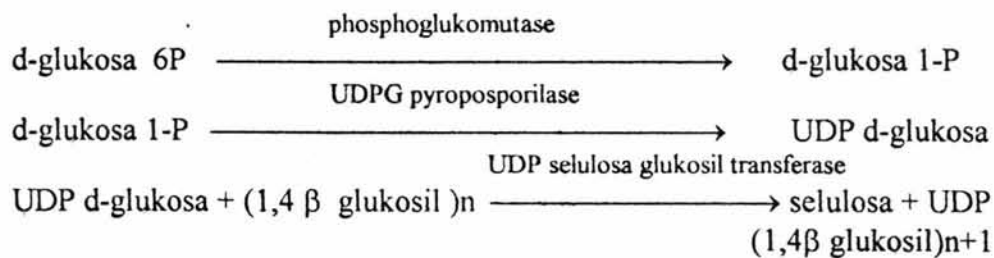
A. xylinum membentuk rajutan selulosa yang memanjang longitudinal dalam tiap mikrofibrilnya. Tahap ini dapat dilihat sebagai susunan pori-pori linier dengan diameter 120 - 150 Å⁰ dalam membran lipopolisakarida (Brown dkk., 1976). *A. xylinum* tumbuh dalam media agar base, dan mempunyai keunikan karena membentuk mikrofibril selulosa yang meliputi massa sel. Jalinan selulosa ini tampak lunak, setelah hari kedelapan berubah menjadi kesat, berkerut-kerut memadat dan membentuk tepian yang terjalin kuat (Dimaguila, 1967). *A. xylinum* tahan didalam medium padat maupun medium cair selama 6-8 bulan dan akan mati pada suhu 65-75°C. Pada masa sekarang telah aktif dilakukan penelitian tentang biosintesa selulosa oleh *A.xylinum* (Alaban, 1962).

Pada proses fermentasi pembentukan *nata*, *A.xylinum* mempunyai aktifitas merubah glukosa menjadi asam glukonat yang merupakan prekursor selulosa.

Pada pembentukan selulosa dibutuhkan senyawa perantara yaitu heksosa phosphat, kemudian heksosa phosphat ini mengalami oksidasi melalui lingkaran penta phosphat, demikian juga pembentukan asam terjadi melalui heksosa monophosphat (Irmayanti, 1982).

Pada sintesis selulosa ada dua sistem yang bekerja yaitu prekursor selulosa (asam glukonat) mengadakan polimerisasi di dalam sel, kemudian mikromolekul yang terbentuk disekresikan keluar, dan prekursor selulosa (asam glukonat) mampu melewati dinding sel melalui membran sel kemudian mengalami polimerisasi di luar sel (Frazier, 1974).

Menurut Michel (1974) pembentukan selulosa dapat digambarkan sebagai berikut :



Menurut Schlegel dan Schmidt (1994) selulosa terdiri dari rantai (D-glukosa dengan derajat polimerisasi sebesar kurang lebih 14.000, sifat-sifat fisik dan fibril selulosa terutama kekokohannya dan ketidaklarutannya, tidak sesuai dengan struktur berupa rantai tunggal, rantai-rantai ini harus saling berhubungan dengan cara menutupi gugus hidrofil (lampiran 1). Menurut analisis struktur sinar rontgen selulosa mempunyai kisi kristalin silih berganti dengan daerah tidak kristalin, seutas benang selulosa terdiri dari fibril-fibril selulosa.

Tahapan fermentasi pembentukan selulosa oleh *A.xylinum* dimulai dengan mentransport glukosa dari molekul di dalam sel membentuk poliglukosa di luar sel. Polimer ini bergabung dan kristalisasinya membentuk mikrofibril selulosa yang padat dan keras. *A.xylinum* membentuk *pellicle* serupa cincin di permukaan media cair yang tampak seperti bentukan deposit sel (Dimaguila, 1967).

Faktor pertumbuhan *A. xylinum* tergantung pada sumber karbon dalam substrat. Sumber karbon terbaik adalah etanol, gliserol, dan Na-laktat. Selama ini belum diketahui asam amino yang esensial untuk *A.ylinum* (Krieg dan John, 1984).

2.3. Nata

Nata berasal dari bahasa Spanyol *nadar* yang artinya berenang atau terapung. Jenis *nata* yang paling populer adalah *nata de coco*. Bahan dasarnya berasal dari air kelapa. *Nata de coco* telah dikembangkan di Philipina maupun di Indonesia dan digunakan sebagai makanan penyegar yang rendah kalori. *Nata* juga dapat dibuat dari bahan lain, yang namanya disesuaikan dengan bahan dasarnya. *Nata* dari cairan buah nanas disebut *nata de pina*, yang berasal dari buah jambu mete disebut *nata de cashew*, dan dari limbah tahu disebut *nata de soya* (Suliantari, 1996).

Nata dihasilkan oleh aktivitas *A. xylinum*. Sifat spesifik bakteri ini adalah kemampuannya membentuk selaput pada permukaan cairan fermentasi yang ternyata komponen selulosa (Lapuz dkk., 1967). Komponen selulosa inilah yang lebih lanjut disebut sebagai *nata*.

Nata ternyata dapat dengan mudah dihidrolisis oleh enzim selulase, hal ini menjadi salah satu bukti bahwa sifat kimia *nata* serupa dengan selulosa, hasil hidrolisis oleh enzim ini merupakan glukosa yang relatif banyak dibandingkan jika dihidrolisis oleh asam (Dimaguila, 1967).

Pada fermentasi *nata*, *A. xylinum* dapat tumbuh baik apabila di dalam cairan fermentasi terdapat kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya, yaitu terdapat sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, magnesium, maupun unsur-unsur mineral yang lain. Selain itu kondisi lingkungan seperti suhu dan aerasi harus sesuai (Wibowo, 1990).

Kenaikan jumlah sel yang cepat terjadi pada hari pertama fermentasi *nata*. Pada hari kedua tampak adanya substansi berbentuk lapisan tipis yang terdapat di permukaan cairan. Lapisan tipis yang disebut sebagai *nata* itu setiap harinya bertambah tebal, dan setelah proses fermentasi berlangsung selama 14 hari, penebalan tidak bertambah lagi. Pada saat itulah fase pertumbuhan bakteri sudah mencapai jumlah stasioner, artinya bertambahnya jumlah sel bakteri dengan jumlah kematian seimbang, bahkan dimungkinkan jumlah sel yang mati lebih banyak, sehingga proses fermentasi *nata* tidak efektif lagi. Pada awal fermentasi ini dengan cairan fermentasi, bakteri, lingkungan serta sanitasi yang baik, jarang terjadi kontaminasi oleh jamur. *A. xylinum* yang dominan tumbuh menghasilkan asam sehingga mampu mencegah terjadinya kontaminasi. Setelah fermentasi berlangsung lebih dari 14 hari kondisi bakteri sudah menurun dan suasana yang aerob mempermudah terjadinya kontaminasi oleh jamur (Surtiningsih, 1997).

Pada kondisi fermentasi yang kurang baik, misalnya sumber karbon, nitrogen, mineral dalam jumlah yang terlalu sedikit serta jumlah pH yang terlalu rendah atau di atas netral mengakibatkan pertumbuhan *A. xylinum* terhambat. Akibat yang ditunjukkan oleh terhambatnya pertumbuhan *A. xylinum* adalah *nata* dihasilkan tipis serta lunak, bahkan pada kondisi yang tidak menguntungkan tidak dihasilkan *nata*, walaupun masih nampak adanya pertumbuhan.

Faktor-faktor yang harus diperhatikan dalam fermentasi *nata* adalah pengaturan kondisi fermentasi yang optimum untuk pertumbuhan *A. xylinum* meliputi pH, suhu, sumber karbon, maupun nutrisi lainnya (nitrogen, sulfur, fosfor, dan lain-lain). Bakteri ini bersifat aerob, sehingga pada kondisi ini aerasi juga berpengaruh. (Rahayu.dkk, 1993).

Beberapa faktor yang berpengaruh pada fermentasi *nata*, yaitu :

a. Tingkat Keasaman

Hampir semua mikroba tumbuh pada tingkat pH yang berbeda. Sebagian besar bakteri tumbuh pada pH mendekati netral (pH 6,5 - 7,5). Pada percobaan *nata* dengan variasi pH 2 sampai 8 pada media air kelapa-sukrosa, ternyata *nata* hanya terbentuk pada interval pH 3,5 sampai 7,5. Pada pH 5,0 sampai 5,5 dihasilkan *nata* yang tipis dan lunak (Lapuz dkk., 1967). Tingkat keasaman optimum untuk pembentukan *nata* adalah pH 4 sampai 4,5 (Frazier, 1974). Pada percobaan pembuatan *nata* dengan media air kelapa, sukrosa, dan yeast ekstrak dari variasi pH 3 - 11, ternyata pada pH awal 8 bakteri *A. xylinum* sudah tidak dapat tumbuh. Pada pH rendah, yaitu 3, bakteri hanya tumbuh sedikit. *A. xylinum* tumbuh paling banyak dan *nata* yang tebal dan kukuh pada pH awal 4 sampai 6.

Sehingga kalau kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum sekitar 7, maka *A. xylinum* mempunyai kondisi yang lebih asam (Alaban, 1962)

b. Temperatur

Lapuz dkk. (1967) dan Alaban (1962) dalam penelitiannya memperoleh hasil bahwa temperatur optimum fermentasi *nata* adalah 28 - 31⁰C atau pada suhu kamar, yang menghasilkan *nata* paling tebal. Pada suhu 20⁰C, pertumbuhan *A. xylinum* terhambat sehingga dihasilkan *nata* yang tipis dan lunak. *A. xylinum* tidak dapat tumbuh pada suhu 15⁰C. Pada suhu 35⁰C, *nata* juga tidak terbentuk, walaupun masih tampak adanya pertumbuhan (Lapuz dkk., 1967).

c. Gula Sebagai Sumber Karbon

Pada dasarnya *nata* dapat dihasilkan dari cairan fermentasi yang mengandung dekstrosa, galaktosa, sukrosa, laktosa, maupun maltosa sebagai sumber karbon (C). Pada cairan fermentasi laktosa dihasilkan *nata* yang tipis dan lunak dan pada cairan fermentasi galaktosa dihasilkan *nata* yang sangat tipis. *Nata* yang tebal dan kukuh dihasilkan pada cairan fermentasi dekstrosa dan sukrosa, sedang konsentrasi dekstrosa maupun sukrosa yang optimum adalah 10% (Lapuz dkk., 1967).

d. Sumber Nitrogen

Dari lima variasi sumber nitrogen yaitu kalium nitrat, natrium nitrat, amonium sulfat, amonium fosfat, dan bactopecton, yang memberi hasil paling baik adalah amonium fosfat diikuti amonium sulfat. Penggunaan kalium maupun natrium nitrat sebagai sumber nitrogen ternyata tidak efisien (Lapuz dkk., 1967). Cairan fermentasi yang menggunakan yeast ekstrak serta pepton sebagai sumber

nitrogen, menghasilkan *nata* yang lebih tebal dan kukuh dibandingkan dengan cairan fermentasi yang menggunakan amonium sulfat maupun kalium nitrat (Alaban, 1962).

Lebih lanjut Alaban (1962) menyebutkan bahwa *A. xylinum* dapat membentuk *nata* pada media air kelapa, sukrosa, air buah tomat, air buah jeruk, maupun air buah nanas, tetapi hasil yang paling baik adalah pada media air kelapa dan sukrosa. Kondisi pertumbuhan yang optimum dipenuhi bila pada cairan fermentasi terdapat sukrosa sebanyak 5 - 8 %, asam asetat glasial 2 - 5 %, dan komponen nitrogen, pH optimum dan pada suhu 28 - 37⁰C (suhu kamar). Fermentasi *nata* yang efisien berlangsung selama 14 hari.

2.4. Kacang Hijau

2.4.1. Taksonomi dan Morfologi

Tanaman kacang hijau menurut Rukmana (1997), termasuk *famili Leguminosae* yang banyak varietasnya. Kedudukan tanaman kacang hijau dalam taksonomi tumbuhan termasuk dalam *Kingdom Plantae*, *divisi Spermatophyta*, *subdivisi Angiospermae*, *kelas Dicotylidoneae*, *ordo Leguminales*, *famili Leguminosae*, *genus Phaseolus*, *spesies Phaseolus aureus* sinonim *P. radiatus* L

Kerabat dekat kacang hijau adalah kacang hijau india (*P. mungo*), kacang merah (*P. vulgaris* L), kacang kapri (*Pisum sativum* L) dan lain-lain. Susunan tubuh tanaman kacang hijau terdiri atas akar, batang, daun, bunga, buah dan biji. Perakaran tanaman kacang hijau bercabang banyak dan membentuk bintil-bintil

(nodula) akar. Makin banyak nodula akar, makin tinggi kandungan nitrogen (N) sehingga menyuburkan tanah.

Batang tanaman kacang hijau berukuran kecil, berbulu, berwarna hijau kecoklat-coklatan, atau kemerah-merahan, tumbuh tegak mencapai ketinggian 30-110 cm dan bercabang menyebar ke semua arah. Daun tumbuh majemuk, tiga helai anak daun pertangkai. Helai daun berbentuk oval dengan ujung lancip dan berwarna hijau (Rukmana, 1997).

Bunga kacang hijau berkelamin sempurna (hemaprodit), berbentuk kupu-kupu dan berwarna kuning. Buah berpolong, panjangnya antara 6-15 cm. Tiap polong berisi 6-16 butir biji. Biji kacang hijau berbentuk bulat kecil dengan berat 0,5-0,8 mg per butir atau berat per 1000 butir antara 36-78 g, berwarna hijau sampai hijau mengkilap.

2.4.2. Kegunaan

Tanaman kacang hijau termasuk multiguna, yakni sebagai bahan pangan, pakan ternak, dan pupuk hijau. Dalam tatanan makanan sehari-hari, kacang hijau dikonsumsi sebagai bubur, sayur (kecambah), dan kue-kue. Kacang hijau merupakan sumber gizi, terutama protein nabati. Kandungan gizi kacang hijau cukup tinggi dan komposisinya lengkap, seperti tersaji pada tabel 2

Tabel 2. Komposisi Biji Kacang Hijau

Komposisi	Kandungan/100g
Kalori (kal)	345,00
Protein (g)	22,00
Lemak (g)	1,20
Karbohidrat (g)	62,90
Serat kasar (g)	4,30
Abu (g)	3,90
Kalsium (mg)	125,00
Zat besi (mg)	6,70
Posphor (mg)	340,00
Natrium (mg)	6,00
Kalium (mg)	141,00
Vitamin A (SI)	157,00
Vitamin B1 (mg)	0,64
Vitamin C (mg)	6,00
Air (g)	10,00

Sumber : Rukmana, 1997

Kandungan protein (asam amino) biji kacang hijau cukup lengkap yang terdiri atas asam amino esensial, yakni Isoleosin 6,95%, Leusin 12,90%, Lysin 7,94%, Methionin 0,84%, Phenylalanin 7,07%, Threonin 4,50%, Valin 6,23%, dan asam amino nonesensial yakni Alanin 4,15%, Arginin 4,44%, Asam Aspartat 12,10%, Asam Glutamat 17,00%, Glysin 4,03%, Tryptophan 1,35%, dan Tyrosin 3,86% (Rukmana, 1997).

Kacang hijau selain berguna untuk kesehatan tubuh, juga berkasiat sebagai obat tradisional. Bubur kacang hijau sangat baik untuk penderita penyakit beri-

beri, sedangkan kecambah kacang hijau merupakan sumber vitamin E yang berkhasiat antisterilitas. Hasil penelitian KAISI, lembaga penelitian kesehatan tubuh manusia di Korea, menunjukkan bahwa setiap 100 g kecambah kacang hijau mengandung 4,2 g protein, 3,4 g karbohidrat, 1,0 g lemak, 47 g kalori, 9,2 g air dan 15 g vitamin C (Rukmana, 1997).

Tanaman kacang hijau sangat baik dijadikan vegetasi atau penutup tanah. Fungsi tanaman kacang hijau sebagai penutup tanah adalah menyuburkan tanah, terutama kandungan unsur nitrogen dan penghasil bahan pangan sumber protein.

BAB III

MATERI DAN METODE

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kesehatan Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, selama satu bulan mulai tanggal 15 Januari sampai 15 Februari 1998.

3.2. Materi Penelitian

3.2.1. Bahan Penelitian

Bahan dasar yang digunakan adalah whey sebanyak sembilan liter yang diperoleh dari 18 liter susu yang telah digumpalkan, sari kecambah kacang hijau (900 g kecambah dalam 1,8 l air yang dididihkan selama 30 menit). Starter berupa *A. xylinum* yang diperoleh dari Laboratorium Kesehatan Susu dan Daging Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga, asam asetat glasial, gula pasir dan agar base.

3.2.2. Peralatan yang Digunakan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, sumbat penutup, gelas ukur, gelas erlenmeyer 250 ml dan 1000 ml, jarum ose, bunsen, stoples berkapasitas 500 ml dan berdiameter 10 cm, kain saring, pengaduk, sendok, kapas, kertas label, kertas aluminium, kompor listrik, panci 20 l, penyaring, pH meter, autoclave, timbangan listrik, rak penyimpanan stoples fermentasi, jangka sorong untuk mengukur ketebalan *nata*.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1 Cara Kerja

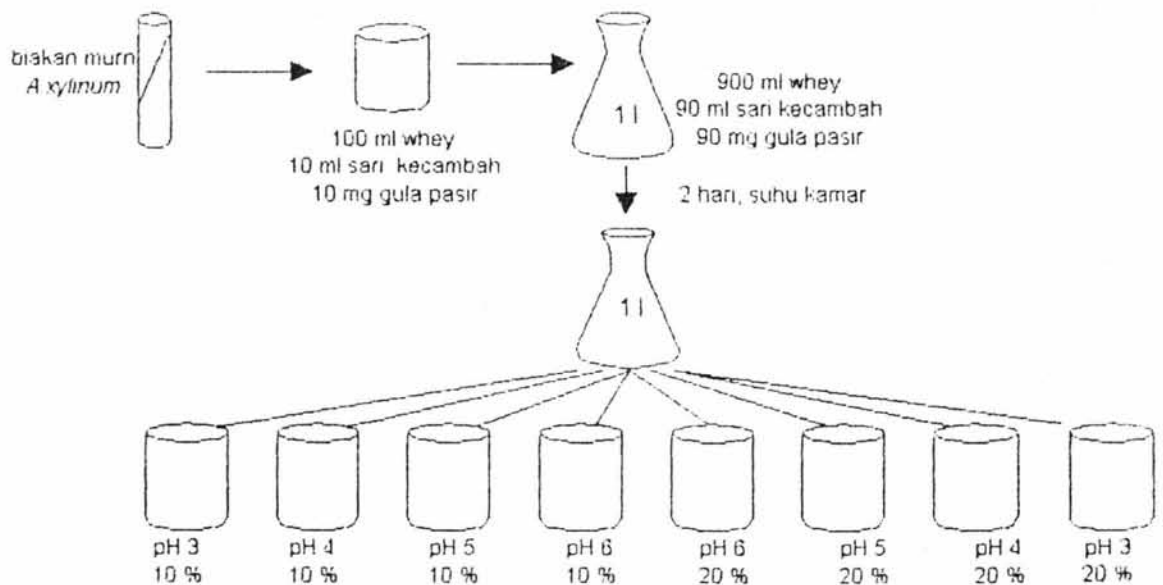
Metode pembuatan *nata* ini dibagi dalam lima tahap yang terdiri dari:

Tahap I. Pemurnian

Pemurnian dilakukan dengan menumbuhkan *A. xylinum* pada media agar miring yang berisi whey, gula pasir dan sari kecambah kacang hijau

Tahap II. Penyiapan Starter

Starteri *A. xylinum* dibuat dengan cara sebagai berikut (Gambar 1)



Gambar 1. Cara Pembuatan Starter *A. xylinum*

Biakan murni bakteri *A. xylinum* sebanyak 2-4 jarum ose dari agar miring dipindahkan kedalam media cair steril yang terdiri dari 100 ml whey, 10 ml sari kecambah kacang hijau, 10 mg gula pasir, dan diinkubasikan selama dua hari pada suhu kamar. Selanjutnya suspensi bakteri ini dimasukkan ke dalam media steril yang terdiri dari 900 ml whey, 90 ml sari kecambah kacang hijau dan 90 mg gula pasir dan diinkubasi ulang selama dua hari pada suhu kamar selanjutnya siap diinokulasikan pada cairan fermentasi.

Tahap III. Penyiapan Cairan Fermentasi

Cairan fermentasi pada penelitian ini dibuat dengan cara sebagai berikut, untuk masing-masing kelompok perlakuan diberikan whey satu liter dan gula pasir sebanyak 10 mg, kemudian ditambahkan sari kecambah 10 ml dan 20 ml (sesuai perlakuan), serta ditambahkan asam asetat glasial hingga pH-nya mencapai 3,4,5 dan 6 (sesuai perlakuan), sesudah diaduk rata kemudian disaring dengan kapas dan didihkan selama 30 menit.

Tahap IV. Fermentasi *Nata*

Fermentasi *nata* dilakukan pada stoples yang berkapasitas 500 ml dan berdiameter 10 cm yang telah disterilkan dengan alkohol 70%. Masing-masing stoples diberi cairan fermentasi steril sebanyak 250 ml, sehingga untuk masing-masing kelompok perlakuan terdapat empat stoples fermentasi. Inokulat sebanyak 10% diinokulasikan ke dalam cairan fermentasi. Fermentasi dilakukan secara aerob, agar tidak mudah terkontaminasi masing-masing stoples fermentasi ditutup dengan kain saring. Fermentasi dilakukan selama 14 hari.

Tahap V. Pemanenan Nata

Hasil fermentasi dipanen pada umur 14 hari. *Nata* yang dipanen dengan hati-hati tidak dapat dikonsumsi langsung, tetapi bagian lapisan bawah *nata* dibuang. Untuk menghilangkan asam *nata* direndam dalam air selama tiga hari dan air rendaman diganti setiap hari, kemudian *nata* direbus pada air mendidih selama 10-15 menit untuk membunuh mikroba. *Nata* diiris kecil-kecil (1,5 x 1,5 cm) dan siap dikonsumsi (Suliantari, 1996).

3.4. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial 2 x 4. Penelitian ini terdiri dari dua faktor dan empat ulangan. pH cairan fermentasi merupakan faktor A ada empat macam yaitu 3,4,5 dan 6, sedangkan konsentrasi sari kecambah kacang hijau merupakan faktor B ada dua macam yaitu 10% dan 20%.

Penelitian ini dibagi menjadi delapan perlakuan yaitu :

a_0b_0 : fermentasi dengan pH 3 dengan 10% sari kecambah kacang hijau

a_0b_1 : fermentasi dengan pH 3 dengan 20% sari kecambah kacang hijau

a_1b_0 : fermentasi dengan pH 4 dengan 10% sari kecambah kacang hijau

a_1b_1 : fermentasi dengan pH 4 dengan 20% sari kecambah kacang hijau

a_2b_0 : fermentasi dengan pH 5 dengan 10% sari kecambah kacang hijau

a_2b_1 : fermentasi dengan pH 5 dengan 20% sari kecambah kacang hijau

a_3b_0 : fermentasi dengan pH 6 dengan 10% sari kecambah kacang hijau

a_3b_1 : fermentasi dengan pH 6 dengan 20% sari kecambah kacang hijau

3.5. Parameter Pengamatan

3.5.1. Pengukuran Ketebalan

Pengukuran ketebalan *nata de milko* dilakukan dengan menggunakan jangka sorong. *Nata* yang telah difermentasi selama 14 hari dipanen, kemudian dicuci dengan air sampai bersih dan dihilangkan lapisan bagian bawahnya selanjutnya diukur menggunakan jangka sorong.

3.5.2. Uji Organoleptik

Uji organoleptik dilakukan panelis terhadap kekenyalan, warna dan kesukaan. Uji organoleptik dilakukan pada waktu dan hari yang sama. Pada penyajiannya, pada setiap meja panelis disediakan *nata* yang diuji. Dibagian bawah mangkok diberi tanda. Letak mangkok diatas meja diacak, kemudian samplingnya diberi nomor urut sesuai letaknya di atas meja untuk memudahkan panelis memberi penilaian. Disediakan pula satu gelas air minum untuk mencuci mulut setiap kali panelis merasakan bahan yang diuji. Disediakan pula formulir uji organoleptik, seperti tercantum pada lampiran 2.

Pada uji kekenyalan, warna dan kesukaan dengan lima skala hedonik dilakukan 20 orang panelis sesuai syarat Soekarto (1985) dengan penilaian seperti terdapat pada tabel 3.

Tabel 3. Skala Hedonik dan Skala Numerik *Nata de Milko*.

Skala Hedonik	Skala Numerik	Skala Hedonik	Skala Numerik	Skala Hedonik	Skala Numerik
Sangat kenyal	4	Putih Bening	4	Sangat Suka	4
Kenyal	3	Putih Keruh	3	Suka	3
Agak Kenyal	2	Putih Susu	2	Agak Suka	2
Tidak Kenyal	1	Putih Kekuningan	1	Tidak Suka	1
Sangat Tidak Kenyal	0	Putih Kecoklatan	0	Sangat Tidak Suka	0

Uji kekenyalan dilakukan panelis dengan menggigit, dan uji warna dengan menggunakan mata (Soekarto, 1985).

3.6. Analisis Data

Data ketebalan *nata de milko* yang diperoleh dianalisis menggunakan uji F 5% (Sudjana, 1992), apabila terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) diantara perlakuan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) 5% (Kusriningrum, 1989). Untuk data uji organoleptik dikonversi menurut metode Fisher dan Yates (Larmond, 1977), selanjutnya dianalisis menggunakan uji F 5% apabila terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) diantara perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

BAB IV

HASIL PENELITIAN

4.1. Ketebalan *Nata de Milko*

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini menunjukkan adanya pertumbuhan *A. xylinum* pada semua perlakuan fermentasi. Hasil analisis statistik dengan uji F menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi terhadap ketebalan *nata de milko* berbeda nyata ($p < 0,05$). Pengaruh konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak berbeda nyata terhadap ketebalan *nata de milko* ($p > 0,05$).

Untuk mengetahui keadaan perbedaan ketebalan *nata de milko* di antara perlakuan, dilanjutkan dengan uji BNT 5%. Hasil perhitungan tersebut menunjukkan bahwa rata-rata ketebalan *nata de milko* tertinggi pada fermentasi hari ke-14 pada perlakuan a_1 (pH 4) yaitu 6,025 mm yang berbeda nyata dengan perlakuan lain. Ketebalan tertinggi selanjutnya pada perlakuan a_0 (pH 3) yang menghasilkan tebal *nata* 5,33 mm yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan a_2 (pH 5) dengan tebal 5,05 mm, sedangkan ketebalan *nata* terendah terdapat pada perlakuan a_3 (pH 6) yaitu 4,31 mm. Rata-rata dan simpangan baku ketebalan *nata de milko* dapat dilihat pada tabel 4. Data-data uji ketebalan *nata de milko* pada penelitian ini tercantum pada lampiran 3, sedangkan hasil analisis statistiknya tercantum dalam lampiran 4.

Tabel 4. Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Ketebalan *Nata de milko* (dalam mm)

pH	Konsentrasi sari kecambah		Total Rata-rata
	b ₀	b ₁	
a ₀	5,51 ± 0,09	5,15 ± 0,62	5,33 ^b
a ₁	5,92 ± 0,58	6,13 ± 0,40	6,025 ^a
a ₂	5,06 ± 0,42	5,04 ± 0,41	5,05 ^{bc}
a ₃	4,28 ± 0,23	4,34 ± 0,64	4,31 ^c
Total rata-rata	5,19	5,16	

a, b, dan c superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

Keterangan :

- a₀ = cairan fermentasi dengan pH 3
- a₁ = cairan fermentasi dengan pH 4
- a₂ = cairan fermentasi dengan pH 5
- a₃ = cairan fermentasi dengan pH 6
- b₀ = konsentrasi sari kecambah kacang hijau 10%
- b₁ = konsentrasi sari kecambah kacang hijau 20%

4.2. Uji Organoleptik

4.2.1. Kekenyalan

Hasil analisis statistik dengan uji F menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi terhadap kekenyalan *nata de milko* berbeda nyata ($p < 0,05$). Konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap kekenyalan *nata de milko* tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Untuk mengetahui perbedaan kekenyalan, dilanjutkan dengan uji BNT 5%. Hasil perhitungan tersebut menunjukkan nilai kekenyalan tertinggi (paling kenyal) terdapat pada perlakuan a₁ (pH 4). Sedangkan nilai kekenyalan terendah (paling tidak kenyal) pada perlakuan a₃ (pH 6) yang tidak berbeda nyata dengan

perlakuan a_2 (pH 5). Nilai rata-rata dan simpangan baku kekenyalan *nata de milko* pada perlakuan dapat dilihat pada tabel 5. Data-data uji kekenyalan pada penelitian ini tercantum pada lampiran 5, sedangkan analisis statistiknya tercantum pada lampiran 6.

Tabel 5. Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Kekenyalan *Nata de Milko*

pH	Konsentrasi Sari Kecambah		Total
	b_0	b_1	Rata – rata
a_0	$0,10 \pm 0,42$	$0,22 \pm 0,41$	$0,16^b$
a_1	$0,34 \pm 0,41$	$0,28 \pm 0,30$	$0,31^a$
a_2	$0,14 \pm 0,37$	$0,05 \pm 0,56$	$0,08^{bc}$
a_3	$0,03 \pm 0,34$	$-0,05 \pm 0,28$	$-0,01^c$
Total rata-rata	0,145	0,125	

a, b, dan c superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$).

4.2.2. Warna

Hasil analisa statistik dengan uji F menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi, konsentrasi sari kecambah kacang hijau, dan interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap warna *nata de milko* tidak berbeda nyata. Nilai rata-rata dan simpangan baku warna *nata de milko* pada perlakuan dapat dilihat pada tabel 6. Data-data uji warna pada penelitian ini tercantum pada lampiran 7, sedangkan analisis statistiknya tercantum pada lampiran 8.

Tabel 6. Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Warna *Nata de Milko*

pH	Konsentrasi Sari Kecambah		Total Rata-rata
	b_0	b_1	
a_0	$0,28 \pm 0,71$	$0,36 \pm 0,79$	0,32
a_1	$0,27 \pm 0,61$	$0,11 \pm 0,60$	0,19
a_2	$0,41 \pm 0,70$	$0,31 \pm 0,84$	0,36
a_3	$0,04 \pm 0,79$	$- 0,10 \pm 0,72$	- 0,03
Total rata-rata	0,25	0,17	

4.2.3. Kesukaan

Hasil analisis statistik dengan uji F menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi terhadap kesukaan *nata de milko* berbeda nyata ($p < 0,05$). Konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dengan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak berbeda nyata ($p > 0,05$).

Untuk mengetahui perbedaan kesukaan, dilanjutkan dengan BNT 5%. Hasil perhitungan tersebut menunjukkan nilai kesukaan tertinggi (paling disukai) pada perlakuan a_1 (pH 4) yang berbeda nyata dengan perlakuan yang lain, sedangkan nilai kesukaan terendah (paling tidak disukai) terdapat pada perlakuan a_3 (pH 6) yang tidak berbeda nyata dengan perlakuan a_0 (pH 3). Nilai rata-rata dan simpangan baku kesukaan pada perlakuan dapat dilihat pada tabel 7. Data-data uji kesukaan pada penelitian ini tercantum pada lampiran 9, sedangkan analisis statistiknya tercantum pada lampiran 10.

Tabel 7. Pengaruh pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Kesukaan *Nata de Milko*

pH	Konsetrasi Sari Kecambah		Total
	b ₀	b ₁	Rata-rata
a ₀	0,15 ± 0,47	0,21 ± 0,43	0,180 ^{bc}
a ₁	0,48 ± 0,44	0,42 ± 0,38	0,450 ^a
a ₂	0,40 ± 0,34	0,11 ± 0,44	0,255 ^b
a ₃	0,07 ± 0,56	0,03 ± 0,38	0,050 ^c
Total rata-rata	0,275	0,443	

a, b, dan c superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

BAB V

PEMBAHASAN

5.1. Ketebalan *Nata de Milko*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi terhadap ketebalan *nata de milko* berbeda nyata. Konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak berbeda nyata. pH cairan fermentasi yang menghasilkan ketebalan *nata de milko* tertinggi terdapat pada perlakuan a₁ (pH 4) sedangkan pH cairan fermentasi yang menghasilkan ketebalan *nata* terendah terdapat pada perlakuan a₃ (pH 6).

Perbedaan ini sesuai dengan pendapat Frazier (1974) yang menyatakan bahwa *A.xylinum* dalam pertumbuhannya memerlukan kondisi yang optimum yaitu dalam medium harus cukup mengandung nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri, sumber glukosa sebanyak 10-20%, asam cuka glasial 2-5%, temperatur optimum selama proses fermentasi 28^oC, pH cairan fermentasi berkisar antara 4-4,5%, jumlah inokulum yang digunakan 10-20% dari volume cairan fermentasi

Pada cairan fermentasi dengan pH 4 *nata* yang terbentuk paling tebal dikarenakan pH optimum untuk pertumbuhan *A. xylinum* adalah 4-4,5 sehingga cairan fermentasi tersebut sangat menunjang aktivitas kehidupan bakteri tersebut. Sedangkan cairan fermentasi dengan pH 3 menempati urutan ke-2 terhadap ketebalan *nata de milko* karena pada pH rendah kontaminasi dengan bakteri lain

relatif kecil maka *nata* yang terbentuk juga lebih tebal. Pada cairan fermentasi dengan pH 5-6 *nata* yang terbentuk lebih tipis karena pada pH netral atau mendekati netral terjadinya kontaminasi dengan bakteri lain lebih besar, sehingga pertumbuhan *A. xylinum* akan terhambat.

Hasil fermentasi yang baik didapatkan oleh cairan fermentasi yang kandungan nutrisinya cukup untuk pertumbuhan mikroorganisme (Wibowo, 1990). Biji kacang hijau mengandung nutrisi yang cukup baik untuk pertumbuhan *A. xylinum* (lampiran 2). Perkecambahan menyebabkan perubahan fisik maupun kimia biji kacang hijau. Perubahan tersebut adalah terhidrolisisnya beberapa zat menjadi senyawa yang lebih sederhana. Hal ini memudahkan penggunaan zat-zat yang diperlukan bagi pertumbuhan *A. xylinum*. Pemberian sari kecambah kacang hijau 10% tidak berbeda nyata dengan sari kecambah kacang hijau 20% terhadap ketebalan *nata de milko*, karena nutrisi yang diperlukan untuk pertumbuhan *A. xylinum* sudah tercukupi dengan konsentrasi sari kecambah kacang hijau 10%.

Keberadaan sukrosa pada cairan fermentasi dapat mendukung mekanisme pembentukan selulosa. *A. xylinum* merubah glukosa menjadi selulosa diluar sel. Selulosa ini akan mengapung pada permukaan cairan fermentasi (*nata de milko*). Pada cairan fermentasi tersebut bakteri akan tumbuh optimal disertai adanya sumber karbohidrat yang cukup. Keadaan ini mengakibatkan *nata* yang terbentuk cukup tebal.

Pada proses pembuatan keju maupun proses penggumpalan susu persentase laktosa terbesar terikat pada whey. Laktosa tersebut selanjutnya akan terurai menjadi glukosa dan galaktosa. Galaktosa mengalami transformasi. Laktosa tersebut akan terurai menjadi glukosa dan galaktosa. Galaktosa

menjadi glukosa, dan selanjutnya glukosa ini yang akan membentuk polimer menjadi selulosa (Michel, 1974).

Pada penelitian ini *nata* yang dihasilkan relatif tipis dibandingkan dengan *nata* dari bahan lain. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Lapuz dkk. (1967) yang mengatakan bahwa *nata* yang diperoleh dari cairan fermentasi laktosa menghasilkan *nata* yang tipis dan lunak, sedangkan pada cairan fermentasi galaktosa dihasilkan *nata* yang sangat tipis. *Nata* yang tebal dan kukuh dihasilkan pada cairan fermentasi dektrosa dan sukrosa yang terdapat pada cairan fermentasi air kelapa. Selain itu masih adanya kandungan lemak pada whey yang cukup tinggi (tabel 1) sehingga menghambat pembentukan selulosa pada permukaan cairan fermentasi. Lemak mempunyai berat jenis yang lebih kecil akan mengapung di atas permukaan cairan fermentasi yang akan menghalangi aliran oksigen, dimana oksigen sebagai sumber aseptor elektron terakhir dalam bioenerginya (Nurwantoro dkk., 1997), sedangkan CO₂ yang dikeluarkan oleh mikroba semakin banyak sehingga aktifitas pertumbuhan dan pembentukan metabolit akan terhambat.

Pada pembuatan *nata* dengan cairan fermentasi laktosa, yang merupakan disakarida akan dipecah menjadi glukosa dan galaktosa oleh enzim laktase. Sampai sejauh ini belum diketahui enzim yang dihasilkan oleh *A. xylinum* untuk memecah laktosa menjadi glukosa dan galaktosa. Tipisnya *nata* yang terbentuk dikarenakan kurang mampunya *A. xylinum* memecah laktosa menjadi senyawa yang lebih sederhana sehingga dapat dengan mudah digunakan sebagai sumber carbon dan sumber nutrisi untuk pembentukan metabolit. Hal lain yang

menyebabkan tipisnya nata de milko yang dihasilkan adalah adanya penurunan pH yang sangat cepat pada waktu pemecahan laktosa menjadi asam laktat yang menyebabkan pertumbuhan *A. xylinum* untuk pembentukan metabolit terhambat.

5.2. Uji Organoleptik

5.2.1. Kekenyalan *Nata de milko*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi terhadap kekenyalan *nata de milko* berbeda nyata. Konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak berbeda nyata. pH cairan fermentasi yang menghasilkan *nata* paling kenyal terdapat pada perlakuan a₁ (pH 4), sedangkan pH cairan fermentasi yang menghasilkan *nata* paling tidak kenyal (lembek) terdapat pada perlakuan a₃ (pH 6). Kekenyalan *nata* yang dihasilkan menurut Dimaguila (1967) dimulai dengan munculnya benang-benang pendek yang tersebar seperti lendir yang menutupi sel bakteri. Pada koloni yang tua benang-benang akan semakin panjang dan membentuk struktur yang kacau, selanjutnya benang-benang tersebut akan terpilin yang lama-kelamaan akan berubah bentuk menjadi seperti tali, benang-benang ini yang akan menyusun anyaman selulosa yang mempengaruhi kekenyalan *nata* yang dihasilkan.

Benang-benang pendek tersebut merupakan mikrofibril selulosa yang ada di luar dinding sel *A. xylinum* yang terjadi melalui proses polimerisasi dan kristalisasi dari rantai 1,4 glukosida (Delmer dkk., 1983). Nutrisi yang cukup, pH cairan fermentasi yang sesuai serta kandungan karbohidrat yang cukup

mendukung pertumbuhan bakteri secara optimal sehingga menghasilkan *nata* yang cukup tebal. Kristalisasi polimer glukosa lebih sempurna sehingga terbentuk mikrofibril yang padat dan keras (Rahayu, 1993).

Kekenyalan berbanding terbalik dengan jumlah rongga mikrofibril, *nata* yang kenyal berarti jalinan mikrofibrilnya masif. Semakin tinggi kekenyalan *nata* semakin rendah jumlah rongga mikrofibril pada *nata* yang dihasilkan. Rongga udara pada *nata* memungkinkan kontaminasi dengan zat-zat lain.

5.2.2. Warna *Nata de Milko*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi, konsentrasi sari kecambah kacang hijau serta interaksi antara pH cairan fermentasi dengan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak berbeda nyata.

Warna *nata* terkait dengan bahan dasar, serta penanganannya. Pada penelitian ini bahan dasar *nata* yang digunakan sama pada semua perlakuan, serta penanganan pasca panennya juga sama yakni dengan perebusan selama 10 - 15 menit tanpa penambahan cairan gula, sehingga warna *nata* yang dihasilkan relatif sama.

5.2.3. Kesukaan *Nata de Milko*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi terhadap kesukaan *nata de milko* berbeda sangat nyata. Konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dengan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak berbeda nyata.

Kesukaan ini sangat dipengaruhi oleh subyektifitas panelis. Menurut Sardi (1996) bahwa *nata* yang baik dan memenuhi permintaan konsumen adalah *nata* yang tidak berjamur, berwarna putih bersih, mempunyai konsistensi yang kenyal serta bau yang tidak menyimpang. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian ini bahwa *nata* yang diperoleh dari perlakuan a₁ (cairan fermentasi dengan pH 4) menghasilkan *nata* yang tidak berjamur, karena pada pH tersebut merupakan pH yang optimal dan cocok untuk pertumbuhan *A. xylinum*. Tidak tumbuhnya jamur dikarenakan pH cairan fermentasi tersebut tidak terlalu asam sehingga bukan merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan jamur (kapang dan khamir). Cairan fermentasi dengan pH 3 merupakan media yang cocok untuk pertumbuhan kapang dan khamir sesuai dengan pendapat Nurwantoro dkk (1997) yang menyatakan bahwa pangan yang mempunyai pH rendah (dibawah 4) biasanya mudah dirusak oleh khamir dan kapang. Perlakuan a₃ yaitu *nata* yang dihasilkan oleh cairan fermentasi dengan pH 6 memiliki konsistensi yang lembek sehingga tidak disukai konsumen.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Setelah dilakukan penelitian terhadap whey dengan beberapa perlakuan pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau untuk pertumbuhan *A. xylinum*, maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Ketebalan *nata* tertinggi diperoleh dari cairan fermentasi dengan pH 4, sedangkan ketebalan *nata* terendah diperoleh dari cairan fermentasi dengan pH 6 demikian juga dengan kekenyalan dan kesukaannya.

Perbedaan pH cairan fermentasi tidak memberikan perbedaan warna pada *nata de milko* yang dihasilkan.

3. Perbedaan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak memberikan perbedaan terhadap ketebalan, kekenyalan, warna maupun kesukaan *nata de milko*.
4. Interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak memberikan perbedaan terhadap ketebalan, kekenyalan, warna dan kesukaan *nata de milko*.

6.2. Saran

1. Untuk menghindari pencemaran dari limbah industri keju dimasa yang akan datang maka hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan pemikiran mengenai salah satu cara pembuatan *nata de milko* yang dapat dimanfaatkan baik oleh industri makanan maupun masyarakat untuk meningkatkan pendapatan.
2. Hasil akan lebih baik apabila untuk penelitian ini digunakan whey yang berasal dari limbah keju (bukan dari susu yang digumpalkan) karena kandungan lemaknya lebih sedikit.
3. Untuk penelitian lebih lanjut sebaiknya dilakukan perhitungan jumlah bakteri dalam inokulat sebelum ditanamkan pada cairan fermentasi dengan haemosytometer di bawah mikroskop.

RANGKUMAN

Dyah Wahyuning Aspriati. Pengaruh Variasi pH Cairan Fermentasi dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau pada Fermentasi Whey oleh *Acetobacter xylinum* terhadap Ketebalan dan Organoleptik *Nata de Milko*. Soetji Prawesthirini, SU., Drh sebagai pembimbing pertama dan Soelistyaningwati G., Drh sebagai pembimbing kedua.

Pada industri pengolahan keju, 90% dihasilkan limbah whey yang merupakan masalah yang harus dicari pemecahannya. Pembuatan *nata de milko* merupakan salah satu alternatif dalam memecahkan masalah tersebut.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah whey dapat diolah menjadi *nata de milko* dengan menggunakan *A.xylinum* sebagai starter dan sejauh mana pengaruh pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau serta interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau terhadap ketebalan dan organoleptik *nata de milko*.

Pembuatan *nata* dilakukan dengan menginokulasikan starter sebanyak 10% ke dalam cairan fermentasi yang terdiri dari whey, gula pasir dan sari kecambah kacang hijau dengan pH awal fermentasi bervariasi .

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 2X4 terdiri dari dua faktor dan empat kali ulangan. pH cairan fermentasi merupakan faktor A ada empat macam yaitu pH 3,4,5 dan 6, sedangkan konsentrasi sari kecambah kacang hijau merupakan faktor B ada dua macam yaitu konsentrasi 10% dan 20%. Parameter yang diamati adalah ketebalan dan uji organoleptik meliputi kekenyalan, warna dan kesukaan. Data ketebalan

yang diperoleh dianalisis dengan uji F 5%. Jika terdapat perbedaan nyata ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan uji BNT 5%. Untuk data uji organoleptik dikonversi menurut metode Fisher dan Yates (Larmond, 1977), selanjutnya dianalisis menggunakan uji F 5% apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT 5%.

Hasil penelitian menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri *A.xylinum* pada semua perlakuan fermentasi. Hasil analisis statistik dengan uji F menunjukkan bahwa pengaruh pH cairan fermentasi terhadap ketebalan *nata de milko* berbeda nyata ($p < 0,05$), demikian juga dengan dengan kekenyalan dan kesukaannya. pH cairan fermentasi tidak berbeda nyata dengan warna *nata de milko*. Konsentrasi sari kecambah kacang hijau dan interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak berbeda nyata terhadap ketebalan, kekenyalan dan warna *nata de milko*.

Kesimpulan yang dapat diperoleh adalah bahwa whey dapat diolah sebagai *nata de milko* dengan menggunakan *A.xylinum* sebagai starter. Ketebalan *nata* tertinggi diperoleh dari cairan fermentasi dengan pH 4 sedangkan ketebalan *nata* terendah diperoleh dari cairan fermentasi dengan pH 6 demikian juga dengan kekenyalan dan kesukaannya. Perbedaan pH cairan fermentasi tidak memberikan perbedaan warna pada *nata de milko* yang dihasilkan. Perbedaan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak memberikan perbedaan terhadap ketebalan, kekenyalan, warna maupun kesukaan *nata de milko*. Interaksi antara pH cairan fermentasi dan konsentrasi sari kecambah kacang hijau tidak memberikan perbedaan terhadap ketebalan, kekenyalan, warna dan kesukaan *nata de milko*.

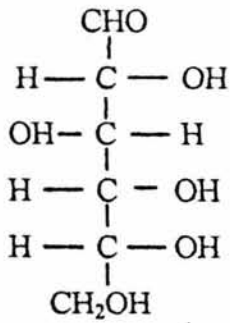
DAFTAR PUSTAKA

- Alaban, C. A. 1962. Studies on the Optimum Conditions for *Nata de Coco* bacterium or *Nata* Formation in coconut water. The Philippine Agriculturist.
- Anonimus. 1965. Dairy Handbook. Alva Laval Lund. Sweden.
- Buckle, K. A., R. A. Edward, G. H. Fleet and M. Wooton. 1978. A Course Manual in Food Science Australian Vice Chancellor's Committee, Weston and Ferguson Company, Brisbane, Australia. 171.
- Crueger, W and Crueger, A. 1992. Biotechnology, A texts book of Industrial Microbiology. Science Tech.Inc. Medison.
- Delmer, D.P., Benzimen M dan Klien A.S. 1983 . A Comparison of Mechanism of Cellulose Biosynthesis in Plan and Bacteria. Proc. Natl. Acad. Sel. USA, Jour 1-15.
- Dimaguila, L.A.S. 1967. Causative Organism, Nature and Properties of *Nata de Coco*. The College of Agriculture University of the Phillipines, Laguna. Phillipines.
- Eckles, C. H., W. B. Combe and H. Macy. 1994. Milk and Milk Products. 6th. Ed. Mc. Graw - Hill Book Company. Inc Bombay, New Delhi. 266-289.
- Frazier, W.C. 1974. Food Microbiology 2nd ed. Mc. Graw. Hill Bood Co. Inc. New Delhi. 330-381.
- Irianah, R. 1994. Pengaruh Pesteurisasi Sederhana terhadap Kualitas dan Daya Tahan Air Susu. Skripsi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya. 1-7.
- Irmayanti, E. 1982. Pembuatan *Nata* dari Beberapa Macam Sari Buah. Fak. Tehnologi Pertanian. Universitas Gajah Mada. Yogyakarta.
- Krieg N. R. and John, 1984. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology. Volume 1. Williams and Wilkins. Baltimore. 57-60.
- Kusriningrum, 1989. Rancangan Acak Lengkap. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga. Surabaya.
- Lampert, L. M. 1970. Modern Dairy Production. Chemical Publishing Company, Inc. New York. 207-213

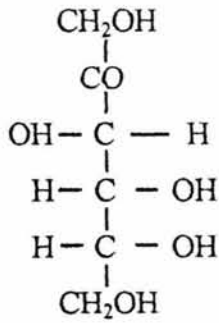
- Larmond, E.; 1977. Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food. Canada Departement of Agricultur. Ottawa. 39-41.
- Michel, 1974. Biochemical Pathway BMBH, West Germany, Boehringer, Hohenheim.
- Nurwantoro, Djarijah, S. A., 1997. Mikrobiologi Pangan Hewan Nabati. Kanisius. Yogyakarta. 13-14.
- Pelczar, M.J and Chan, E.C.S. 1988. Dasar-dasar Mikrobiologi 2. Universitas Indonesia. 898.
- Rahayu, E. S. R. Indrati. T. Utami. E. Harmayani. M.N. Cahyanto. 1993. Bahan Pangan Hasil Fermentasi. Food and Nutrition Culture Collection (FNCC). Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. 74-89.
- Sardi, S. 1996. Janji Baru Air Kelapa. Tilik desa. No. 2/XII Edisi Februari. Surabaya. 23-28.
- Schlegel, H. G. dan Schmidt, K. 1994. Mikrobiologi Umum. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. 470.
- Soekarto, S.T. 1985. Penilaian Organoleptik. Bhratara Karya Aksara. Jakarta. 91.
- Sudjana. 1992. Metode Statistika. Tarsito. Bandung.
- Suliantari. 1996. Sari Kelapa *Nata de Coco* Kaya Rasa Rendah Kalori. Mingguan Femina. No. 1/XXIV edisi 4. PT. Gaya Favorit Press. Jakarta.
- Surtiningsih, T. 1997. Pengaruh Biofermentasi Bakteri *Acetobacter xylinum* dan Kadar Sukrosa terhadap Pembentukan *Nata de Soya* dan *Nata de Coco* dari Limbah Industri dan Air Kelapa. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga. Surabaya. 7-9.
- Webb, B. H. and A. H. Johnson. 1965. Fundamental of Dairy Chemistry. The AVI Publishing Company. Inc., Westport.
- Wibowo. J. 1990. Teknologi Fermentasi. Proyek Pengembangan Pusat Fasilitas Bersama Antar Universitas (Bank Dunia XVII) PAU Pangan dan Gizi Universitas Gajah Mada. Yogyakarta. 7-8.
- Winarno, T. G. dan B. S. Laksmi. 1982. Kerusakan Bahan Pangan dan Pencegahannya. Penerit Galia Ind. 7-9.

Lampiran 1

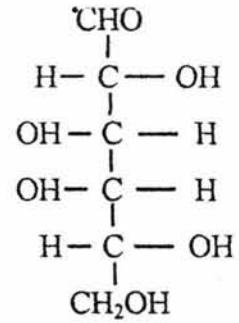
Struktur Kimia Glukosa, Fruktosa, Galaktosa, Laktosa, Sukrosa, dan Selulosa



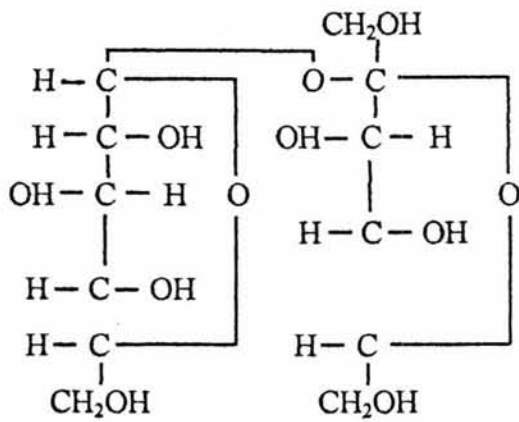
Glukosa



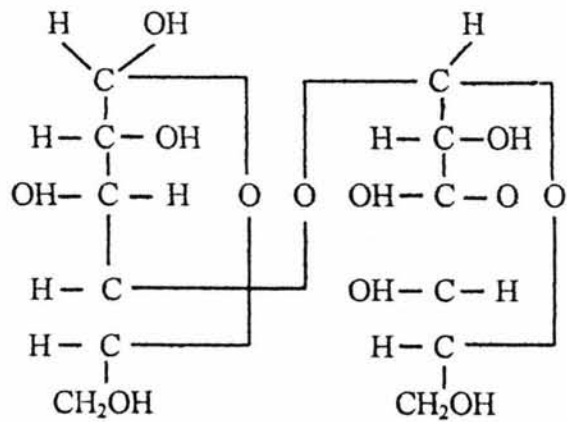
Fruktosa



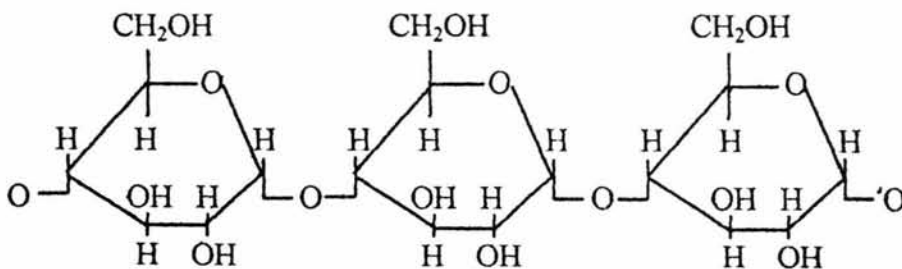
Galaktosa



Sukrosa



Laktosa



Selulosa

Sumber: Michel (1974)

Lampiran 2

Daftar Isian Uji Organoleptik

(Kekenyalan, Warna dan Kesukaan)

Nama :

No.Panelis :

Tanggal :

No	Perlakuan	Kekenyalan	Warna	Kesukaan
1	A ₁
2	B ₄
3	A ₂
4	B ₃
5	B ₂
6	A ₃
7	B ₁
8	A ₄

Keterangan :

Penilaian terhadap kekenyalan, warna, dan kesukaan

Skala Hedonik	Skala Numerik	Skala Hedonik	Skala Numerik	Skala HEdonik	Skala Numerik
Sangat Kenyal	4	Putih Bening	4	Sangat Suka	4
Kenyal	3	Putih Keruh	3	Suka	3
Agak Kenyal	2	Putih Susu	2	Agak Suka	2
Tidak Kenyal	1	Putih Kekuningan	1	Tidak Suka	1
Sangat Tidak Kenyal	0	Putih Kecoklatan	0	Sangat Tidak Suka	0

Lampiran 3

Data Hasil Uji Ketebalan *Nata de Milko* dari Delapan Perlakuan (Data Langsung Setelah Pengujian)

Ula- ngan	Perlakuan Kombinasi							
	$a_0 b_0$	$a_0 b_1$	$a_1 b_0$	$a_1 b_1$	$a_2 b_0$	$a_2 b_1$	$a_3 b_0$	$a_3 b_1$
1	5,52	5,28	5,25	6,52	4,51	4,56	4,56	4,48
2	5,37	5,76	6,54	5,57	5,25	5,08	4,33	3,52
3	5,58	5,29	6,24	6,26	5,50	5,56	4,02	5,07
4	5,56	4,28	5,64	6,17	4,98	4,97	4,21	4,28

Keterangan :

- $a_0 b_0$ = Fermentasi dengan pH 3 dengan 10% sari kecambah kacang hijau
 $a_0 b_1$ = Fermentasi dengan pH 3 dengan 20% sari kecambah kacang hijau
 $a_1 b_0$ = Fermentasi dengan pH 4 dengan 10% sari kecambah kacang hijau
 $a_1 b_1$ = Fermentasi dengan pH 4 dengan 20% sari kecambah kacang hijau
 $a_2 b_0$ = Fermentasi dengan pH 5 dengan 10% sari kecambah kacang hijau
 $a_2 b_1$ = Fermentasi dengan pH 5 dengan 20% sari kecambah kacang hijau
 $a_3 b_0$ = Fermentasi dengan pH 6 dengan 10% sari kecambah kacang hijau
 $a_3 b_1$ = Fermentasi dengan pH 6 dengan 20% sari kecambah kacang hijau

Lampiran 4

Tabel Dua Arah Jumlah Perlakuan pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Ketebalan *Nata de Milko*

pH	Konsentrasi sari kecambah		Total	Rata-rata
	b ₀	b ₁		
a ₀	22,03	20,61	42,64	5,33
a ₁	23,67	24,52	48,19	6,02
a ₂	20,24	20,17	40,41	5,05
a ₃	17,12	17,35	34,47	4,31
Total	83,06	82,65	165,71	
Rata-rata	5,19	5,17		

$$FK = \frac{(165,71)^2}{8 \times 4} = 858,1189$$

$$JKT = (5,52)^2 + (5,28)^2 + \dots + (4,28)^2 - FK = 17,548$$

$$JKP = \frac{(20,03)^2 + (20,61)^2 + \dots + (17,35)^2}{4} - FK = 12,43$$

$$JKA = \frac{(42,64)^2 + \dots + (34,47)^2}{2 \times 4} - FK = 12,0804$$

$$JKB = \frac{(83,06)^2 + (82,65)^2}{4 \times 4} - FK = 0,0052$$

$$JK AB = 12,43 - 12,0804 - 0,0052 = 0,3444$$

$$JKS = 17,5486 - 12,43 = 5,1186$$

SIDIK RAGAM

SK	dB	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel} 0,05
Perlakuan	7	12,43	1,7757		
A	3	12,0804	4,0268	18,8786*	3,01
B	1	0,0052	0,0052	0,0244	4,26
AB	3	0,3444	0,1148	0,5382	3,01
Sisa	24	5,1186	0,2133		
Total	31	17,5486			

Keterangan : * berbeda nyata ($p < 0,05$)

Uji Beda Nyata Terkecil (Uji BNT)

BNT 5% = 0,3266

pH	Rata-rata (x)	B e d a			BNT 5%
		(x - a ₃)	(x - a ₂)	(x - a ₀)	
a ₁	6,02 ^a	1,715 [*]	0,974 [*]	0,694 [*]	0,3266
a ₀	5,33 ^b	1,02 [*]	0,28		
a ₂	5,05 ^{bc}	0,74 [*]			
a ₃	4,31 ^d				

$$\text{BNT (5\%)} = t_{5\% (24)} = \sqrt{\frac{2 \times 0,2133}{4}} = 0,3266$$

Lampiran 5

Data Hasil Uji Organoleptik Kekenyalan *Nata de Milko* dari Delapan Perlakuan (Data Langsung Setelah Pengujian)

Panelis	Perlakuan Kombinasi							
	$a_0 b_0$	$a_0 b_1$	$a_1 b_0$	$a_1 b_1$	$a_2 b_0$	$a_2 b_1$	$a_3 b_0$	$a_3 b_1$
1	1	2	2	2	1	1	1	1
2	2	2	2	3	2	2	3	1
3	2	2	3	2	3	2	2	2
4	3	3	3	3	2	3	3	3
5	3	4	3	3	3	3	2	3
6	2	2	2	2	3	2	1	2
7	3	2	3	3	2	2	2	2
8	2	3	2	3	2	2	3	1
9	1	3	2	3	2	2	2	2
10	2	3	2	2	2	2	2	2
11	3	2	3	3	2	2	1	2
12	1	2	3	3	1	2	2	2
13	3	3	4	3	4	2	2	2
14	3	2	3	3	2	3	3	2
15	3	4	4	3	3	2	2	2
16	3	2	3	3	2	3	3	2
17	1	2	2	1	2	1	2	2
18	3	2	3	2	2	3	2	2
19	1	1	1	2	1	1	1	1
20	2	2	3	2	2	3	2	2

Lampiran 6

Hasil Konversi Fisher dan Yates (Larmond, 1977) dari Kekenyalan *Nata de Milko*

P	Perlakuan Kombinasi								Total
	a_0b_0	a_0b_1	a_1b_0	a_1b_1	a_2b_0	a_2b_1	a_3b_0	a_3b_1	
1	-0,5	0	0	0	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-2,5
2	0	0	0	0,5	0	0	0,5	-0,5	0,5
3	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0	1
4	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,5	3,5
5	0,5	1,16	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0,5	4,16
6	0	0	0	0	0,5	0	-0,5	0	0
7	0,5	0	0,5	0,5	0	0	0	0	0,5
8	0	0,5	0	0,5	0	0	0,5	-0,5	1
9	-0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0,5
10	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0,5
11	0,5	0	0,5	0,5	0	0	-0,5	0	1
12	-0,5	0	0,5	0,5	0	-0,5	0	0	0
13	0,5	0,5	1,16	0,5	1,16	0	0	0	3,82
14	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	2,5
15	0,5	1,16	1,16	0,5	0,5	0	0	0	3,82
16	0,5	0	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	2,5
17	-0,5	0	0	-0,5	0	-0,5	0	0	-1,5
18	0,5	0	0,5	0	0	0,5	0	0	1,5
19	-0,5	-0,5	-0,5	0	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-3,5
20	0	0	0,5	0	0	0,5	0	0	1
Total	2	4,32	6,82	5,5	2,16	1	0,5	-1	
x	0,1	0,22	0,34	0,28	0,11	0,05	0,03	-0,05	
SD	0,42	0,41	0,41	0,30	0,37	0,36	0,34	0,28	

Arah Jumlah Perlakuan pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Kekenyalan *Nata de milko*

pH	Konsentrasi Sari Kecambah		Total	Rata-rata
	b ₀	b ₁		
a ₀	2	4,32	6,32	0,158
a ₁	6,82	5,5	12,32	0,308
a ₂	2,16	1	3,16	0,079
a ₃	0,5	-1	-0,5	-0,013
Total	11,48	9,82	21,3	
Rata-rata	0,072	0,016		

$$FK = \frac{(21,3)^2}{8 \times 20} = 2,8356$$

$$JKT = (-0,5)^2 + (0)^2 + \dots + (0)^2 - FK = 22,6424$$

$$JKP = \frac{(2)^2 + (4,32)^2 + \dots + (-1)^2}{20} - FK = 2,4814$$

$$JKA = \frac{(6,32)^2 + \dots + (-0,5)^2}{2 \times 20} - FK = 2,2134$$

$$JKB = \frac{(11,48)^2 + (9,82)^2}{4 \times 20} - FK = 0,0172$$

$$JK AB = 2,4814 - 2,2134 - 0,0172 = 0,2508$$

$$JKS = 22,6424 - 2,4814 = 20,161$$

SIDIK RAGAM

SK	dB	JK	KT	F _{hit}	F Tabel
					0,05
Perlakuan	7	2,4814	0,3545		
A	3	2,2134	0,7378	5,564 *	2,674
B	1	0,0172	0,0172	0,1297	3,914
AB	3	0,2508	0,0836	0,6305	2,674
Sisa	152	20,161	0,0836		
Total	159	22,6424			

Keterangan : * berbeda nyata ($p < 0,05$)

Uji Beda Nyata Terkecil (Uji BNT)

BNT 5% = 0,115

pH	Rata-rata (x)	Beda			BNT 5%
		(x - a ₃)	(x - a ₂)	(x - a ₀)	
a ₁	0,308 ^a	0,321 *	0,229 *	0,15 *	0,115
a ₀	0,158 ^b	0,171 *	0,079		
a ₂	0,079 ^b	0,092			
a ₃	-0,013 ^c				

$$\text{BNT (5\%)} = t_{5\% (152)} = \sqrt{\frac{2 \times 0,1326}{20}} = 0,115$$

Lampiran 7

Data Hasil Uji Organoleptik Warna *Nata de milko* dari Delapan Perlakuan (data langsung setelah pengujian)

Panelis	Perlakuan Kombinasi							
	a_0b_0	a_0b_1	a_1b_0	a_1b_1	a_2b_0	a_2b_1	a_3b_0	a_3b_1
1	4	4	3	4	3	1	1	3
2	4	4	4	4	3	1	1	1
3	4	1	2	2	4	4	1	1
4	4	1	4	1	4	4	4	1
5	1	4	4	2	4	1	4	4
6	1	2	2	2	4	4	1	1
7	2	4	2	2	1	1	1	1
8	1	1	1	1	3	1	1	1
9	1	3	2	4	4	4	1	1
10	1	4	4	1	4	2	2	2
11	2	2	4	2	2	1	2	1
12	4	4	2	2	2	3	4	4
13	3	3	3	3	4	4	1	1
14	2	2	2	2	2	4	4	2
15	4	1	1	1	1	4	1	1
16	1	1	1	1	1	1	1	1
17	2	1	1	4	1	1	1	4
18	4	2	3	2	4	2	4	1
19	2	4	2	2	1	4	2	4
20	2	4	2	2	2	4	4	1

Lampiran 8

Hasil Konversi Fisher dan Yates (Larmond, 1977) dari Warna *Nata de Milko*

P	Perlakuan Kombinasi								Total
	a_0b_0	a_0b_1	a_1b_0	a_1b_1	a_2b_0	a_2b_1	a_3b_0	a_3b_1	
1	1,16	1,16	0,5	1,16	0,5	-0,5	-0,5	0,5	3,98
2	1,16	1,16	1,16	1,16	0,5	-1,16	-1,16	-1,16	1,66
3	1,16	-0,5	0	0	1,16	1,16	-0,5	-0,5	1,98
4	1,16	-0,5	1,16	-0,5	1,16	1,16	1,16	-0,5	4,30
5	-0,5	1,16	1,16	0	1,16	-0,5	1,16	1,16	4,8
6	-0,5	0	0	0	1,16	1,16	-0,5	-0,5	0,82
7	0	1,16	0	0	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,84
8	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-3,00
9	-0,5	0,5	0	1,16	1,16	1,16	-0,5	-0,5	2,48
10	-0,5	1,16	1,16	-0,5	1,16	0	0	0	2,48
11	0	0	1,16	0	0	-0,5	0	-0,5	0,16
12	1,16	1,16	0	0	0	0,5	1,16	1,16	5,14
13	0,5	0,5	0,5	0,5	1,16	1,16	-0,5	-0,5	3,32
14	0	0	0	0	0	1,16	1,16	0	2,32
15	1,16	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	1,16	-0,5	-0,5	-0,68
16	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-0,5	-2,00
17	0	-0,5	-0,5	1,16	-0,5	-0,5	-0,5	1,16	-0,18
18	1,16	0	0,5	-0,5	1,16	0	1,16	-0,5	2,98
19	0	1,16	0	0	-0,5	1,16	0	1,16	2,98
20	0	1,16	0	0	0	1,16	1,16	-0,5	2,98
Total	5,62	7,28	5,30	2,14	8,28	6,28	0,8	-2,02	33,7
x	0,281	0,364	0,265	0,107	0,414	0,314	0,04	-0,101	
SD	0,71	0,79	0,61	0,60	0,70	0,84	0,79	0,72	

Tabel Dua Arah Jumlah Perlakuan pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Warna *Nata de milko*

pH	Konsentrasi Sari Kecambah		Total	Rata-rata
	b ₀	b ₁		
a ₀	5,62	7,28	12,9	0,32
a ₁	5,30	2,14	7,44	0,19
a ₂	8,28	6,28	14,56	0,36
a ₃	0,80	-2,02	- 1,22	- 0,03
Total	20	13,68	33,68	
Rata-rata	0,13	0,09		

$$FK = \frac{(33,68)^2}{8 \times 20} = 7,0896$$

$$JKT = (1,15)^2 + (1,16)^2 + \dots + (-0,5)^2 - FK = 82,5728$$

$$JKP = \frac{(5,62)^2 + (7,28)^2 + \dots + (-2,02)^2}{20} - FK = 4,4089$$

$$JKA = \frac{(12,9)^2 + \dots + (-1,22)^2}{2 \times 20} - FK = 3,7915$$

$$JKB = \frac{(20)^2 + (13,68)^2}{4 \times 20} - FK = 0,2497$$

$$JK AB = 4,4089 - 3,7915 - 0,2497 = 0,3677$$

$$JKS = 82,5728 - 4,4089 = 78,1639$$

SIIDK RAGAM

SK	dB	JK	KT	F _{hit}	F _{tabel} 0,05
Perlakuan	7	4,4089	0,6298		
A	3	3,7915	1,2638	2,4578	2,674
B	1	0,2497	0,2497	0,4856	3,914
AB	3	0,3677	0,1226	0,2383	2,674
Sisa	152	78,1639	0,5142		
Total	159	82,5728			

Lampiran 9

Data Hasil Uji Organoleptik Kesukaan *Nata de milko* dari Delapan Perlakuan (Data Langsung Setelah Pengujian)

Panelis	Perlakuan Kombinasi							
	$a_0 b_0$	$a_0 b_1$	$a_1 b_0$	$a_1 b_1$	$a_2 b_0$	$a_2 b_1$	$a_3 b_0$	$a_3 b_1$
1	2	3	4	3	3	2	3	2
2	3	3	3	3	3	2	2	2
3	2	2	3	3	3	1	2	1
4	2	2	3	3	2	3	2	2
5	2	2	2	2	2	2	1	1
6	3	3	4	4	4	3	3	3
7	2	3	3	3	3	3	3	2
8	0	2	2	2	2	2	0	1
9	2	3	3	3	3	3	1	1
10	1	1	2	2	2	2	2	2
11	3	3	3	3	4	3	3	3
12	3	2	3	3	3	2	2	2
13	2	2	3	3	2	2	3	3
14	3	3	2	3	3	2	1	2
15	4	4	4	4	3	4	4	3
16	3	2	3	3	3	1	3	2
17	2	1	4	2	4	1	1	2
18	3	1	3	3	1	1	3	3
19	2	3	3	1	3	2	1	1
20	2	3	1	3	2	3	3	3

Lampiran 10

Hasil Konversi Fisher dan Yates (Larmond, 1977) dari Kesukaan *Nata de Milko*

P	Perlakuan Kombinasi								Total
	a_0b_0	a_0b_1	a_1b_0	a_1b_1	a_2b_0	a_2b_1	a_3b_0	a_3b_1	
1	0	0,5	1,16	0,5	0,5	0	0,5	0	3,16
2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	0	0	2,5
3	0	0	0,5	0,5	0,5	-0,5	0	-0,5	0,5
4	0	0	0,5	0,5	0	0,5	0	0	1,5
5	0	0	0	0	0	0	-0,5	-0,5	-1
6	0,5	0,5	1,16	1,16	1,16	0,5	0,5	0,5	5,98
7	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0	3
8	-1,16	0	0	0	0	0	-1,16	-0,5	-2,82
9	0	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	-0,5	-0,5	1,5
10	-0,5	-0,5	0	0	0	0	0	0	-1
11	0,5	0,5	0,5	0,5	1,16	0,5	0,5	0,5	4,66
12	0,5	0	0,5	0,5	0,5	0	0	0	2
13	0	0	0,5	0,5	0	0	0,5	0,5	2
14	0,5	0,5	0	0,5	0,5	0	-0,5	0	1,5
15	1,16	1,16	1,16	1,16	0,5	1,16	1,16	0,5	7,96
16	0,5	0	0,5	0,5	0,5	-0,5	0,5	0	2
17	0	-0,5	1,16	0	1,16	-0,5	-0,5	0	0,82
18	0,5	-0,5	0,5	0,5	-0,5	-0,5	0,5	0,5	1
19	0	0,5	0,5	-0,5	0,5	0	-0,5	-0,5	0
20	0	0,5	-0,5	0,5	0	0,5	0,5	0,5	2
Total	3	4,16	9,64	8,32	7,98	2,16	1,5	0,5	37,26
x	0,15	0,208	0,482	0,416	0,399	0,108	0,075	0,025	
SD	0,47	0,43	0,44	0,38	0,34	0,44	0,56	0,38	

Tabel Dua Arah Jumlah Perlakuan pH dan Konsentrasi Sari Kecambah Kacang Hijau Terhadap Kesukaan *Nata de milko*

pH	Konsentrasi Sari Kecambah		Total	Rata-rata
	b ₀	b ₁		
a ₀	3,00	4,16	7,16	0,179
a ₁	9,64	8,32	17,96	0,449
a ₂	7,98	2,16	10,14	0,253
a ₃	1,50	0,50	2,00	0,05
Total	22,12	15,14	37,26	
x	0,276	0,189		

$$FK = \frac{(37,26)^2}{8 \times 20} = 8,6769$$

$$JKT = (0)^2 + (0,5)^2 + \dots + (0,5)^2 - FK = 34,2381$$

$$JKP = \frac{(3)^2 + (4,16)^2 + \dots + (0,5)^2}{20} - FK = 4,2883$$

$$JKA = \frac{(7,16)^2 + \dots + (2,00)^2}{2 \times 20} - FK = 3,3393$$

$$JKB = \frac{(22,12)^2 + (15,14)^2}{4 \times 20} - FK = 0,3045$$

$$JK AB = 4,2883 - 3,3393 - 0,3045 = 0,6445$$

$$JK S = 34,2381 - 4,2883 = 29,9498$$

SIDIK RAGAM

SK	dB	JK	KT	F _{hitung}	F _{tabel} 0,05
Perlakuan	7	4,2883	0,6126		
A	3	3,3393	1,1131	5,6502 *	2,674
B	1	0,3045	0,3045	1,5457	3,914
AB	3	0,6445	0,2149	1,0909	2,674
Sisa	152	29,9498	0,1970		
Total	159	34,2381			

Uji Beda Nyata Terkecil (Uji BNT)**BNT 5% = 0,1404**

pH	x	B e d a			BNT 5%
		(x - a ₃)	(x - a ₀)	(x - a ₂)	
a ₁	0,449 ^a	0,394 *	0,270 *	0,196 *	0,1404
a ₂	0,253 ^b	0,203 *	0,074 *		
a ₀	0,179 ^{bc}	0,129 *			
a ₃	0,05 ^c				