



Pembuatan *Nata de Cheese* dari *Whey* Keju Menggunakan Bakteri *Acetobacter xylinum*

Emi Erawati * dan Tita Agustin K

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. A. Yani Tromol Pos I,
Pabelan, Kartasura, Surakarta, 57102.

*E-mail: emi.erawati@ums.ac.id

Abstract

Cheese production produce waste namely whey cheese. This research studies the effect of concentration (7%, 10%, 20% v/v) and pH (4, 4.25, 4.5.) on the fermentation of whey cheese and to investigate Michaelis-Menten constant and maximum productivity. Whey cheeses were made from amount of 500 mL whey cheese waste, added 50 g of sugar, 6 g of ammonium sulfate and 20% w/w Acetobacter xylinum. The whey cheese wastes were fermentation processes for 0, 4, and 8 days. Every 0, 4, and 8 days wastes were measured for calculating glucose and ethanol level. The Michaelis-Menten constant and Vmax have been evaluated. Fermentation of cheese waste was carried out at room temperature for 8 days. The results showed the highest ethanol percentage at pH4 and concentration of 10% v/v are 57.2521% and 30.8540% respectively. On the other hand the highest glucose percentage in the variation pH of 4 and concentration of 20% v/v are 16.99%. From the calculation of the kinetic reaction using Lineweaver-Burk plot in the variation of concentration get Vmax and KM obtained are 5.106 ppm.day-1 and KM 2,9266.107 ppm-1 in that order. While in the variation of pH get Vmax and KM are 1.106 ppm.day-1 and KM 4,95.106 ppm-1 separately.

Keywords : whey cheese, fermentation, ethanol, glucose, Michaelis-Menten constant.

Pendahuluan

Boyolali sebagai kota penghasil susu membuat banyaknya industri pengolahan susu. Salah satunya adalah industri pembuatan keju. *Whey* keju adalah produk sampingan dari industri susu, berupa cairan yang terbentuk selama koagulasi susu kasein dalam pembuatan keju (Guimarães dkk., 2010). Satu kilogram keju yang diproduksi akan menghasilkan *whey* sebanyak 8 sampai 10 liter (Farnworth, 2003). *Whey* dari keju mengandung kurang lebih 85-90% dari volume susu dan lebih dari setengahnya adalah bahan susu padat dimana sekitar 6% dari padatan dalam *whey* mengandung 10% protein, 72% karbohidrat, 1% lemak, dan 8,2% abu. Mineral dalam *whey* antara lain adalah kalsium, fosfor, natrium, dan kalium (Nurhartadi dkk, 2018). Kandungan dalam *whey* keju masih dapat dimanfaatkan dan cocok untuk pertumbuhan bakteri. Oleh karena itu, *whey* keju dapat dimanfaatkan sebagai bahan untuk pembuatan nata. Produk nata menjadi pilihan pengembangan teknologi untuk mengurangi jumlah polutan akibat limbah *whey*. Proses pembuatan nata merupakan teknologi terapan yang diadopsi dari teknologi pembuatan *nata de coco* dengan mengganti air kelapa dengan *whey* keju sebagai media fermentasi (Angraini dan Malahayati, 2017).

Bakteri pembentuk nata adalah bakteri *Acetobacter xylinum* yang berfungsi sebagai *starter* yang digunakan dalam pembentukan nata. Kriteria penting bagi mikroba sebagai *starter*, yaitu sehat dan berada dalam keadaan aktif, tersedia dalam jumlah yang cukup, berada dalam bentuk morfologi yang sesuai, bebas dari kontaminasi dan kemampuannya dalam membentuk produk nata. Jumlah *starter* terbaik pada pembuatan nata adalah 20% untuk menghasilkan ketebalan nata maksimal (Awwaly dkk, 2011). *Acetobacter xylinum* dapat mensintesis sebagian gula menjadi selulosa dan sebagian lainnya diuraikan menjadi asam asetat yang akan menurunkan pH medium. Lama fermentasi akan berpengaruh pada kadar asam yang dihasilkan dan tebal tipisnya nata (Sihmawati dkk, 2014).

Dalam pembuatan nata dilakukan dengan proses fermentasi yang merupakan kegiatan mikrobial pada bahan pangan sehingga dihasilkan produk yang dikehendaki. Mikrobial yang umumnya terlibat dalam fermentasi adalah bakteri, khamir, dan kapang (Jannah, 2010). Media fermentasi yang digunakan harus mengandung komponen nutrisi yang lengkap dan sesuai dengan kebutuhan mikroba yang dijalankan fermentasi (Lapus dkk., 1967) dalam (Nuraini dan Sari, 2015). Nata mengandung air sekitar 98%, karbohidrat 7,27%, protein 0,29%, lemak 0,2%, kalsium 0,012%, fosfor 0,002%, dan vitamin B3 0,017% dengan tekstur agak kenyal, padat, kokoh, putih serta transparan yang menyerupai kolong-kaling. Produk ini digolongkan sebagai makanan rendah kalori, tetapi memiliki kandungan serat yang tinggi, sehingga baik untuk pencernaan dapat menjaga kelangsingan tubuh, membantu penderita diabetes, dan mencegah kanker usus besar (Hammad dkk., 2017). Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh variasi



konsentrasi limbah keju dan pH terhadap kadar etanol dan kadar glukosa yang terkandung didalam *nata de cheese* serta untuk mengetahui kinetika enzim dengan menghitung konstanta Michaelis-Menten. Selain dapat mengurangi polutan dari limbah *whey* keju juga dapat menambah nilai guna berupa produk *nata de cheese*.

Metode Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah *whey* keju yang diperoleh dari limbah industri keju di Boyolali. Sedangkan bahan pembuatan nata adalah *starter Acetobacter xylinum*, gula, *aquadest*, asam asetat glasial, dan $(\text{NH})_2\text{SO}_4$ *food grade*. Alat yang digunakan panci, kompor/*hotplate*, timbangan, nampan plastik, pH meter, saringan, kertas, aluminium foil, karet gelang, pengaduk, autoklaf, erlenmeyer, gelas beker, inkubator, dan kaca arloji.

Limbah keju *whey* sebanyak 500 mL direbus, ditambahkan 50 g gula, 6 g ammonium sulfat, dan 20% w/w *Acetobacter xylinum*. Preparasi bahan dilakukan dengan cara sampel *whey* dari limbah industri pengolahan keju diambil kemudian disaring yang bertujuan untuk memisahkan kotoran dan memisahkan sisa gumpalan-gumpalan yang terdapat dalam *whey*. Kemudian limbah *whey* diambil sebanyak 500 mL (untuk konsentrasi 7% limbah *whey* 35 mL diencerkan dengan air 465 mL, konsentrasi 10% limbah 50 mL diencerkan dengan air 450 mL, dan konsentrasi 20% limbah 100 mL diencerkan dengan air 400 mL) dituangkan dalam panci lalu dipanaskan sampai mendidih sambil diaduk-aduk dan diukur sampai pH 4 jika kurang ditambahkan asam asetat. Setelah mendidih ditambahkan gula 50 g, ammonium sulfat 6 g, aduk sampai larut tunggu 10 menit lalu diangkat, dan didinginkan pada suhu kamar, setelah dingin tuang pada nampan kemudian tambahkan *starter Acetobacter xylinum* 20% dari berat media. Media nata ditambah *starter* dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 7%, 10%, dan 20% v/v. Setelah itu wadah ditutup dengan kertas yang telah disterilkan dan diikat dengan karet. Setelah diinkubasi selama 8 hari nata yang terbentuk diangkat dan dibersihkan. Lembaran nata yang terbentuk kemudian dipotong-potong dimasak dengan air pada suhu 100°C selama 15 menit untuk menghentikan aktifitas bakteri *Acetobacter xylinum*. Untuk menghilangkan asam yang melekat potongan nata tersebut direndam selama 2 hari (air diganti setiap enam jam sekali).

Hasil dan Pembahasan

Dalam penelitian *nata de cheese* ini setiap konsentrasi limbah 7%, 10%, dan 20% v/v dilakukan pengambilan sampel pada hari ke 0, 4, dan 8 untuk diukur kadar glukosa dan kadar etanol. Kadar glukosa diuji menggunakan spektrofotometri dan untuk kadar etanol didapatkan dari pengukuran densitas sampel kemudian dihitung kadar etanol menggunakan tabel kadar etanol pada buku Perry 1999.

Hubungan Kadar Glukosa Terhadap Kadar Etanol Dengan Variasi Konsentrasi Limbah Keju

Hasil dari kadar glukosa dan kadar etanol variasi konsentrasi limbah keju dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Hasil Uji Kadar Glukosa dan Kadar Etanol dengan Variasi Konsentrasi Limbah Keju

Konsentrasi Limbah (v/v)	Lama Fermentasi (Hari)	Kadar Glukosa (%)	Kadar Etanol (%)
7%	0	11,45	27,87
	4	13,17	33,52
	8	14,54	48,09
10%	0	12,62	29,25
	4	14,03	37,19
	8	15,38	50,31
20%	0	13,96	28,05
	4	15,58	43,40
	8	16,99	57,25

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa kadar glukosa dan kadar etanol mengalami peningkatan pada hari ke-0 sampai hari ke-8. Kadar glukosa dan kadar etanol paling tinggi terdapat pada konsentrasi limbah 20% v/v sebanyak 16,99% dan 57,25% dibandingkan konsentasi limbah 10% v/v dan 7% v/v.

Hasil uji kadar glukosa dan kadar etanol dengan variasi pH ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Kadar Glukosa dan Kadar Etanol dengan Variasi pH

pH Limbah Keju	Lama Fermentasi (Hari)	Kadar Glukosa (%)	Kadar Etanol (%)
4	0	13,96	28,05
	4	15,58	43,40
	8	16,99	57,25
4,25	0	13,65	27,63
	4	15,32	36,05
	8	16,52	54,01
4,5	0	13,31	27,39
	4	14,98	32,89
	8	16,14	49,01

Berdasarkan Tabel 2 dapat dilihat bahwa kadar glukosa dan kadar etanol mengalami peningkatan pada hari ke-0 sampai hari ke-8. Semakin lama waktu fermentasi, maka mikroba akan mengadakan kontak yang lebih lama dengan substrat dan akan mengubah konsentrasi glukosa (substrat) menjadi etanol, sehingga etanol yang dihasilkan lebih tinggi. Kadar glukosa dan kadar etanol paling tinggi terdapat pada limbah pH 4 sebanyak 57,25%.

Konversi kadar glukosa dan kadar etanol yang terukur dihitung dengan rumus berikut:

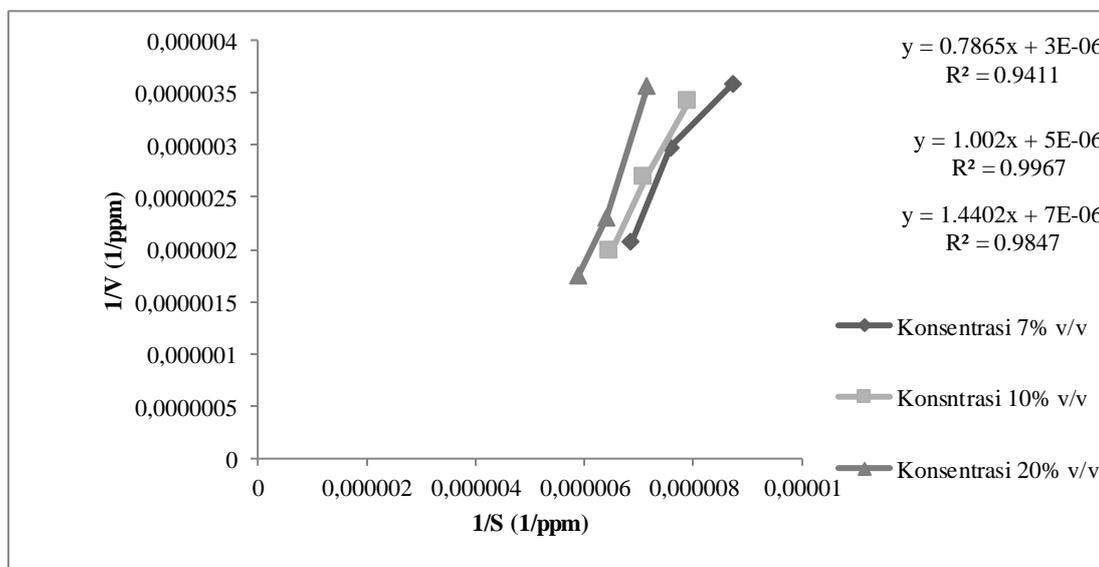
$$\text{Kadar Glukosa (S)} = \text{kadar glukosa (\%)} \times 10.000 \text{ ppm}$$

$$\text{Kadar Etanol (V)} = \text{kadar etanol (\%)} \times 10.000 \text{ ppm}$$

Penentuan Nilai Laju Maksimum (V_{maks}) dan Konstanta Michaelis-Menten (K_m)

1. Penentuan Nilai Laju Maksimum (V_{maks}) dan Konstanta Michaelis-Menten (K_m) pada Variasi Konsentrasi Limbah Keju

Penentuan nilai laju maksimum (V_{maks}) dan konstanta Michaelis-Menten (K_m) dilakukan dengan menggunakan kurva Lineweaver-Burk dengan membuat grafik hubungan antara ($1/v$) sebagai sumbu y terhadap ($1/[S]$) sebagai sumbu x. Selanjutnya data-data yang diperoleh dibuat regresi liniernya dan diperoleh persamaan garis linier. Lereng regresi linier dimasukkan kedalam persamaan Lineweaver-Burk untuk mendapatkan nilai laju maksimum (V_{maks}) dan konstanta michaelis-menten (K_m) secara tepat. Gambar 1 parameter Michaelis-Menten pada variasi konsentrasi menggunakan parameter *Lineweaver-Burk Plot*.



Gambar 1. Hubungan $1/S$ terhadap $1/V$ pada variasi konsentrasi.

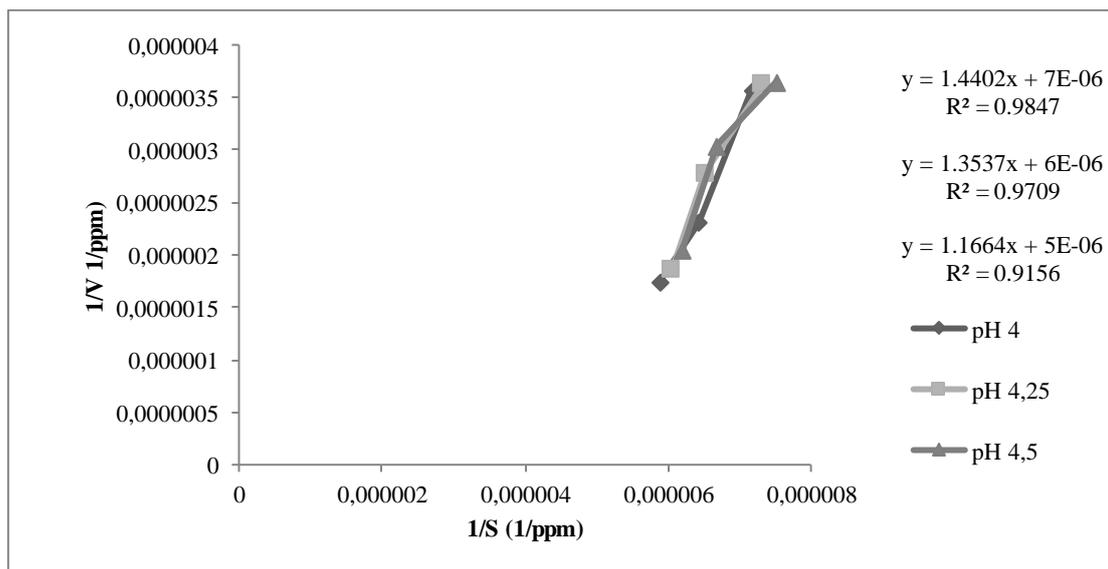
Berdasarkan persamaan regresi linear yang ditampilkan pada Gambar 1 diperoleh konstanta michaelis menten (K_m) dan laju reaksi maksimal (V_{maks}) yang ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Laju Reaksi Maksimal (V_{maks}) dan Konstanta Michaelis Menten (K_m) Kadar Glukosa Terhadap Kadar Etanol pada Variasi Konsentrasi

Konsentrasi Limbah (v/v)	V_{maks} (ppm.hari ⁻¹)	K_m (ppm ⁻¹)
7%	333.333,33	262.166,67
10%	200.000	200.400
20%	142.857,14	205.742,85

Berdasarkan Gambar 1 dan Tabel 3 dengan persamaan reaksi $y = 1,002x + 5 \times 10^{-6}$ sehingga diperoleh V_{maks} sebesar 200.000 ppm.hari⁻¹. Nilai V_{maks} sebesar 200.000 ppm/hari menunjukkan kecepatan maksimum *Acetobacter xylinum* mengubah menjadi glukosa ppm per harinya (Saropah dkk, 2012). Berdasarkan Tabel 3 semakin tinggi konsentrasi maka kecepatan maksimalnya semakin turun. Sedangkan konstanta Michaelis-Menten mencapai setengah dari kecepatan maksimumnya adalah sebesar 200.400 ppm⁻¹ dengan kata lain nilai K_m berfungsi sebagai ukuran konstanta disosiasi (K_d) suatu enzim. Kompleks enzim-substrat nilai K_d ini berbanding terbalik dengan afinitas enzim terhadap substratnya. Nilai K_m yang kecil menunjukkan enzim memiliki afinitas yang tinggi terhadap substrat, sehingga semakin rendah konsentrasi substrat yang dibutuhkan untuk mencapai kecepatan reaksi katalitik maksimumnya (V_{maks}). Sedangkan nilai K_m yang besar menunjukkan bahwa enzim tersebut memiliki afinitas yang rendah terhadap substrat (Hamilton dkk., 1999).

2. Penentuan Nilai Laju Maksimum (V_{maks}) dan Konstanta Michaelis-Menten (K_m) pada Variasi pH
 Gambar 2 merupakan hubungan antara $1/S$ terhadap $1/V$ pada variasi pH 4, 4,25 dan 4,5.



Gambar 2. Hubungan $1/S$ terhadap $1/V$ pada variasi Ph

Berdasarkan persamaan regresi linear yang ditampilkan pada Gambar 2 dapat diperoleh V_{maks} dan K_m yang ditampilkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Kadar Glukosa dan Kadar Etanol dengan Variasi pH

pH Limbah	V_{maks} (ppm.hari ⁻¹)	K_m (ppm ⁻¹)
4	1.428.571,43	2.057.428,57
4,25	200.000	225.616,70
4,5	166.666,7	233.280

Hasil penelitian pada Tabel 4 dibandingkan dengan (Salsabila dkk, 2013), menunjukkan hasil laju reaksi maksimum (V_{maks}) dan konstanta Michaelis-Menten (K_m) pada fermentasi glukosa hasil hidrolisis pati biji durian menjadi etanol. Fermentasi yang dilakukan pada penelitian tersebut yaitu selama 72 jam. Hasil yang didapatkan yaitu V_{maks} sebesar 5.000 ppm.jam⁻¹ dan K_m sebesar 5,5 ppm⁻¹ menggunakan grafik hubungan ($1/S$) dan ($1/V$).



Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa pada pembuatan *nata de cheese* dengan variasi konsentrasi limbah keju dan pH diperoleh kadar glukosa tertinggi pada variasi konsentrasi 20% v/v sebesar 16,99% dan kadar etanol tertinggi sebesar 57,25% pada variasi pH 4. Pada variasi konsentrasi limbah harga V_{maks} dan K_m terbaik adalah 200.000 ppm¹hari dan 200.400 ppm¹. Sedangkan pada variasi pH harga V_{maks} dan K_m terbaik adalah 1.428.571,43 ppm¹hari dan 2.057.428,57 ppm¹.

Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Universitas Muhammadiyah Surakarta yang membiayai Penelitian ini melalui skim Penelitian Individu Dosen Periode 2019/2020.

Daftar Pustaka

- Anggraini DP, Malahayati EN. Pembuatan Nata De Milk Sebagai Alternatif Pemanfaatan Limbah. Prosiding Nasional Hayati V 2017; 69-75.
- Awwalyy KUAL, Puspawati A, dan Radiati LE. Pengaruh Penggunaan Persentase Starter dan Lama Inkubasi yang Berbeda Terhadap Tekstur Kadar Lemak. Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak 2011; 6 (2): 26-35.
- Farnworth ER. Handbook of Fermented Functional Foods. CRC Press: New York. 2003.
- Guimarães PMR, Teixeira JA and Domingues L. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. Biotechnology Advances. Elsevier Inc 2010; 28(3): 375–384.
- Hammado NI, Hammado N, Hasrianti, jum'at W. The Starter Doses Effect of Cacao Pulp On Forming Nata de Cacao. Cokroaminoto Palopo University 2017: 185–190.
- Hamilton LM, Catherine TK, dan William MF. Purification And Properties Of The Raw Starch-Degrading α -Amylase of *Bacillus* sp. IMD' 434. Biotechnology Letters 1999; 21: 111–115.
- Jannah AM. Proses Fermentasi Hidrolisat Jerami Padi. Jurnal Teknik Kimia 2010; 17(1): 44–52.
- Nuraini H, dan Sari ER. Quality Identification of Dragon Fruit Peel (*Hylocereus undatus*) Nata with Sucrose Concentration Variation. International Seminar on Promoting Local Resources for Food and Health 2015: 12–13.
- Nurhartadi E, Nursiwi A, Utami R, dan Widayani E. Pengaruh Waktu Inkubasi dan Konsentrasi Sukrosa terhadap Karakteristik Minuman Probiotik dari Whey Hasil Samping Keju. Jurnal Teknologi Hasil Pertanian 2018 : 9 (2).
- Saropah DA, Jannah A, dan Maunatin A. Kinetika Reaksi Enzimatis Ekstrak Kasar Enzim Selulase Bakteri Selulolitik Hasil Isolasi dari Bekatul. ALCHEMY 2012; 2(1): 35–45.
- Salsabila U, Diah M, Ellya I. Kinetika Reaksi Fermentasi Glukosa Hasil Hidrolisis Pati Biji Durian Menjadi Etanol, Kimia Student Journal 2013; 2 (1): 331-337.
- Sihmawati RR, Oktoviani D dan Wardah. Aspek Mutu Produk Nata de Coco Dengan Penambahan Sari Buah Mangga. Jurnal Teknik Industri HEURISTIC Vol 11 No 2 Oktober 2014; 11(2): 63–74.





Lembar Tanya Jawab

Moderator : **M. Maulana. Azimatun Nur (UPN "Veteran" Yogyakarta)**

Notulen : **Indriana Lestari (UPN "Veteran" Yogyakarta)**

- Penanya** : M. Maulana Azimatun Nur (UPN "Veteran" Yogyakarta)

Pertanyaan : Zat apakah yang dimanfaatkan oleh *acetobacter* untuk menghasilkan gula, karena *whey* banyak mengandung protein dan mikronutrien lainnya?
Apakah ada penambahan gula eksternal?

Jawaban : Karbohidrat, menurut penelitian Nurhartadi (2018) menyatakan bahwa *whey* mengandung $\pm 8 - 9\%$ susu; 10% protein, 72% karbohidrat, 1% lemak dan 8% abu, oleh karena itu kandungan karbohidrat masih tinggi. Bakteri mengkonversi karbohidrat menjadi glukosa, kemudian menjadi Etil alkohol dan karbondioksida, dan selanjutnya menjadi Asam asetat dan air.
Iya, dilakukan penambahan gula eksternal sebagai substrat untuk menambah nutrisi bagi bakteri, agar proses berjalan lebih optimal, namun *nata de cheese* yang dihasilkan belum sesuai dengan SNI.