

I PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai : (1) Latar Belakang, (2) Identifikasi Masalah, (3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (4) Manfaat Penelitian, (5) Kerangka Pemikiran, (6) Hipotesis Penelitian, dan (7) Tempat dan Waktu Penelitian.

1.1 Latar Belakang

Biakan murni adalah biakan jasad renik yang terdiri atas satu jenis jasad saja tanpa tercampur jenis lainnya (*pure culture*) (Hijayanti, 2014).

Starter adalah populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi. *Starter* mikroba dapat dijumpai dalam berbagai bentuk, salah satunya adalah ragi untuk pembuatan roti. Mikroba pada *starter* tumbuh dengan cepat dan fermentasi segera terjadi. Media *starter* biasanya identik dengan media fermentasi. Media ini diinokulasi dengan biakan murni dari agar miring yang masih segar (umur 6 hari). Sumber *starter*/jenis *starter* yang digunakan didalam ragi umumnya terdiri dari berbagai bakteri dan fungi (khamir dan kapang), yaitu *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Amylomyces*, *Endomycopsis*, *Saccharomyces*, *Hansenula anomala*, *Lactobacillus*, dan *Acetobacter* dan sebagainya.

Berdasarkan uraian di atas berkaitan dengan enzim dari mikroorganisme yaitu enzim yang diperoleh dari mikroba didapatkan dengan melalui serangkaian proses panjang. Contoh enzim dari mikroorganisme adalah *Amilase* (*Aspergillus niger*, *A. oryzae*, *Bacillus subtilis*), *Selulase* (*Aspergillus niger*, *Trichoderma viridae*), *Dekstransukrase* (*Leuconostoc mesenteroides*), *Glucose oksidase*

(*Aspergillus niger*), *Invertase* (*Saccharomyces cerevisiae*), *Lactase* (*S. Fragilis*), *Lipase* (*Aspergillus niger*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp*), *Pektinase* (*Aspergillus niger*, *Penicilliumsp*, *Rhizopus sp*), *Protease* (*Proteinase*) (*A. oryzae*, *Bacillus subtilis*, *Mucor sp*, *Rhizopus sp*), *Reninmikrobial* (*Mucornihei*, *M pusillus*). Enzim yang dihasilkan dari sumber lain adalah yang didapat dari tumbuhan dan hewan, contoh tumbuhan (enzim *bromelin*, *papain*, *aktinidin*, *amilase*, dan *liposigenase*). Hewan (*kemotripsin*, *katalase*, *lipase*, *rennet*, dan *tripsin*).

Enzim *bromelin* adalah enzim yang secara alami terdapat pada buah, batang nanas, ataupun kulit nanas. *Bromelin* termasuk enzim proteolitik yang membantu mencerna protein (Fahreza, 2015).

Enzim bromelin termasuk golongan glikoprotein yaitu protein yang mengandung satu bagian oligosakarida pada tiap molekul, yang terikat secara kovalen dengan rantai polipeptida enzim tersebut. Bromelin merupakan enzim yang bersifat hidrolase, yaitu enzim yang bekerja dengan adanya air (Fahreza, 2015).

Buah Nanas merupakan salah satu tanaman buah yang banyak dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis. Nanas adalah tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah (*Ananas Comosus L*). Selain itu nanas memiliki nama daerah “danas” (sunda) dan “neneh” (sumatera), dalam bahasa inggris disebut *pineapple* dan orang spanyol menyebutnya dengan sebutan pina. Nanas berasal dari Brasilia (Amerika Selatan). Nanas masuk ke Indonesia pada abad ke-15, (1599). Tumbuhan nanas termasuk tumbuhan kering yang menyimpan air. *Ananas Comosus L* termasuk tumbuhan (CAM) *Crassulacean*

Acid Metabolism. Terdapat dua kelompok utama berdasarkan duri daun, yaitu berduri dan tidak berduri. Nanas yang daunnya tidak berduri termasuk varietas *Cayenne*. Sedangkan *Queen* dan *Spanish* mewakili kelompok nanas dengan daun berduri.

Tanaman nanas madu merupakan salah satu tanaman buah-buahan yang memiliki prospek penting di Indonesia. Hal ini disebabkan nanas madu memiliki rasa yang lebih manis dibandingkan dengan nanas biasa, sehingga nanas madu banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Nanas madu memiliki kandungan air dan gula.

Hasil panen buah nanas madu di daerah Lampung dengan luas lahan 315 ha mencapai 40.000 ton/tahun dengan rata-rata 126,9 kg/ha, sementara di Indonesia hasil panen buah nanas madu mencapai 60.000 ton/tahun sedangkan di Malaysia dan Filipina mencapai 18-22 ton/tahun (Karya Tani Mandiri, 2016).

Nanas madu mengandung bakteri *Acetobacter xylinum* dengan memiliki pH 3-4,5, tumbuh baiknya bakteri *nata*. Nanas madu juga mengandung gula dan air. Nanas madu pertumbuhannya harus terpapar sinar matahari rata-rata 3-71%, suhu tanam 23-30°C. Penanamannya dengan tekstur tanah porous mengandung banyak humus dengan pH 4,5-5,5 di ketinggian 100-700 m dpl (Rubrik, 2016).

Nanas madu adalah buah yang memiliki rasa manis dibandingkan dengan nanas biasa, sehingga nanas madu memiliki kandungan air dan gula lebih tinggi yaitu 85,3% dan untuk kandungan gula terdiri dari glukosa 1,76%, fruktosa 1,94%, dan sukrosa 4,59% jumlah total gula 8,29%. Pada nanas biasa memiliki kandungan gula 75% dan air 81% (Rubrik, 2016).

Pada nanas madu secara alami telah hidup/ada bakteri *Acetobacter xylinum*. Penambahan sukrosa dimaksudkan sebagai makanan untuk difermentasi oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Dengan kata lain, asalnya bakteri berjumlah sedikit, ketika diberi makanan akan semakin bertambah banyak (Azgara, 2012).

Ditinjau dari produktivitasnya, produksi nanas madu di Kabupaten Lampung Tengah relatif tinggi dengan harga yang relatif murah maka penulis memanfaatkan buah nanas madu untuk membuat *starter* alami. *Starter* alami yaitu biakan yang ditumbuhkan dalam medium buatan.

Selama ini produk *nata* menggunakan *starter* berupa bakteri *Acetobacter xylinum*. Dalam penelitian ini penulis melakukan percobaan dengan menggunakan enzim bromelin yang berasal dari nanas madu sebagai pengganti bakteri *Acetobacter xylinum*.

Starter merupakan biakan murni mikroorganisme dalam hal ini adalah bibit *Acetobacter xylinum* yang telah ditumbuhkan dalam substrat pertumbuhan kultur tersebut sehingga populasi bakteri *Acetobacter xylinum* mencapai kerapatan optimal untuk proses pembuatan *nata*, yaitu 1×10^9 sel/ml. biasanya kerapatan ini akan dicapai pada pertumbuhan kultur tersebut dalam substrat selama 48 jam (2 hari) (Poni, 2008).

Biakan murni merupakan jasad renik yang terdiri atas satu jenis jasad saja tanpa tercampur jenis lainnya (Hidayanti, 2014).

Penggunaan *starter* dapat digunakan 6 hari setelah diinokulasi dengan biakan murni. Pada permukaan *starter* akan tumbuh mikroba membentuk lapisan tipis berwarna putih. Lapisan ini disebut dengan *nata*. Semakin lama lapisan ini

akan semakin tebal sehingga ketebalannya mencapai 1,5 cm. *Starter* yang telah berumur 9 hari (dihitung setelah diinokulasi dengan biakan murni) tidak dianjurkan digunakan lagi karena kondisi fisiologis mikroba tidak optimum bagi fermentasi, dan tingkat kontaminasi mungkin sudah cukup tinggi. Volume *starter* disesuaikan dengan volume media fermentasi yang akan disiapkan. Dianjurkan volume *starter* tidak kurang dari 5% volume media yang akan difermentasi menjadi *nata*. Pemakaian *starter* yang terlalu banyak tidak dianjurkan karena tidak ekonomis (Dian, 2015).

Berdasarkan uraian tersebut, maka diperlukan suatu penelitian yang mendukung untuk menghasilkan *starter* alami yang berkualitas dilihat dari karakteristik *starter* dengan penambahan formulasi substrat selama inkubasi. Dengan demikian diharapkan *starter* alami dapat diterima oleh masyarakat dengan memiliki karakteristik yang baik setelah melalui proses inkubasi yang cukup lama kemudian dapat meningkatkan nilai pasar dan dapat diindustrikan dalam rangka peningkatan nilai tambah buah nanas madu, serta meningkatkan nilai ekonomis bagi masyarakat Indonesia.

1.2 Identifikasi Masalah

1. Apakah perbandingan buah nanas madu dan sukrosa berpengaruh terhadap *starter* alami nanas madu (*Ananas Comosus L*) ?
2. Apakah suhu inkubasi berpengaruh terhadap *starter* alami nanas madu (*Ananas Comosus L*) ?

3. Apakah interaksi antara perbandingan buah nanas madu dan sukrosa serta suhu inkubasi berpengaruh terhadap *starter* alami nanas madu (*Ananas Comosus L*)?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbandingan buah nanas madu dan sukrosa terhadap karakteristik *starter* alami nanas madu (*Ananas Comosus L*) serta suhu inkubasi sehingga dapat membentuk *starter* alami nanas madu (*Ananas Comosus L*).

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan perbandingan buah nanas madu dan sukrosa serta suhu inkubasi terhadap karakteristik *starter* alami nanas madu (*Ananas Comosus L*), nantinya dapat menarik minat masyarakat untuk memanfaatkan buah nanas madu yang dijadikan *starter* alami sebagai pengganti bakteri *Acetobacter xylinum*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi untuk meningkatkan pemanfaatan *starter* alami yang dihasilkan dari buah nanas madu dan memberikan sumbangsih pemikiran bagi pihak-pihak yang membutuhkan serta instansi terkait dalam meningkatkan produksi *starter* alami.

1.5 Kerangka Pemikiran

Starter merupakan biakan murni mikroorganisme dalam hal ini adalah bibit *Acetobacter xylinum* yang telah ditumbuhkan dalam substrat pertumbuhan kultur tersebut sehingga populasi bakteri *Acetobacter xylinum* mencapai kerapatan optimal untuk proses pembuatan *nata*, yaitu 1×10^9 sel/ml. Biasanya kerapatan ini akan dicapai pada pertumbuhan kultur tersebut dalam substrat selama 48 jam (2 hari) (Poni, 2008).

Biakan murni adalah biakan jasad renik yang terdiri atas satu jenis jasad saja tanpa tercampur jenis lainnya (*pure culture*) (Hidayanti, 2014).

Starter adalah populasi mikroba dalam jumlah dan kondisi fisiologis yang siap diinokulasikan pada media fermentasi. *Starter* mikroba dapat dijumpai dalam berbagai bentuk, salah satunya adalah ragi untuk pembuatan roti. Mikroba pada *starter* tumbuh dengan cepat dan fermentasi segera terjadi. Media *starter* biasanya identik dengan media fermentasi. Media ini diinokulasi dengan biakan murni dari agar miring yang masih segar (umur 6 hari). Sumber *starter*/jenis *starter* yang digunakan didalam ragi umumnya terdiri dari berbagai bakteri dan fungi (khamir dan kapang), yaitu *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Mucor*, *Amylomyces*, *Endomycopsis*, *Saccharomyces*, *Hansenula anomala*, *Lactobacillus*, *Acetobacter* dan sebagainya.

Nanas (*Ananas Comosus L*) adalah tanaman buah berupa semak yang memiliki nama ilmiah. Memiliki nama daerah danas (sunda) dan neneh (sumatera) dalam bahasa inggris disebut *pineapple* dan orang spanyol menyebutnya dengan sebutan pina. Nanas berasal dari Brasilia (Amerika Selatan). Nanas masuk ke Indonesia pada abad ke-15, (1599). Tumbuhan nanas termasuk tumbuhan kering yang menyimpan air. *Ananas Comosus L* termasuk tumbuhan (CAM)

Crassulacean Acid Metabolism. Terdapat dua kelompok utama berdasarkan duri daun, yaitu berduri dan tidak berduri. Nanas yang daunnya tidak berduri termasuk varietas *Cayenne*. Sedangkan *Queen* dan *Spanish* mewakili kelompok nanas dengan daun berduri.

Acetobacter xylinum adalah salah satu jenis bakteri yang banyak bermanfaat dalam dunia industri seperti *nata de coco*, *nata de cassava*, *nata de soya*, tepung *mocaf*, dan lain-lain. *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri yang menguntungkan dan tidak berbahaya (Kazumi, 2012).

Klasifikasi bakteri :

Kingdom : *Bacteria*

Phylum : *Proteobacteria*

Class : *Alphaproteobacteria*

Ordo : *Rhodospirillales*

Family : *Acetobacteraceae*

Genus : *Acetobacter*

Acetobacter xylinum merupakan bakteri gram negatif karena mengandung substansi lipid yang lebih tinggi serta dinding selnya lebih tipis, lebih rentan pada antibiotik, penghambatan warna basa kurang dihambat, pertumbuhan nutriennya relatif sederhana dan tahan terhadap perlakuan fisik. Bakteri autotrof karena sumber nutriennya mengandung unsur C,H,O,N atau karbohidrat sebagai penyusun protoplasma, sumber energi untuk pertumbuhannya memerlukan cahaya, sumber karbon untuk pertumbuhannya membutuhkan CO₂.

Bersifat non motil atau polar ialah bakteri yang tidak bergerak, tidak bereproduksi dengan tunas (budding) tidak membentuk endospora (spora yang berdinding tebal didalam bakteri).

Bakteri mikroaerofilik artinya bakteri ini dapat tumbuh baik bila ada sedikit oksigen atmosferik, kelompok bakteri asam asetat melalui proses oksidasi metal alkohol dapat menghasilkan asam asetat.

Pada kultur sel yang masih muda, individu sel berada sendiri-sendiri dan transparan. Koloni yang sudah tua membentuk lapisan menyerupai gelatin yang kokoh menutupi sel koloninya. Termasuk bakteri mesofil yaitu tumbuh pada suhu 25-40⁰C (Kazumi, 2012).

Menurut Penelitian Rofa Yulia Azhara (2012) menunjukkan bahwa media untuk *starter* alami diklasifikasikan menjadi dua penelitian, yaitu (1) media untuk *starter* alami yang diolah dari media fermentasi air kelapa, santan kelapa, tetes tebu (*molases*), limbah cair tebu, (2) media untuk *starter* alami yang diolah dari sari buah masam seperti nanas, melon, pisang, jeruk, jambu biji, strawberry dan lainnya. Formulasi optimal pembuatan media *starter* alami nanas madu dengan menggunakan perbandingan antara nanas:sukrosa:air (6:3:1).

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nurzaman (2013) bahwa perbandingan penambahan sukrosa dengan air yaitu 3:1. Hal ini sesuai dengan pernyataan Reskisari (2012) bahwa sukrosa dan air pada pembuatan media substrat *starter* alami dapat berperan sebagai media pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* yang mana lebih berpengaruh pada penetralisiran sedikit tingkat keasaman sehingga memperbesar peluang terbentuknya *nata*.

Menurut penelitian Abdi Jaya (2013) didapatkan hasil yaitu semakin tinggi konsentrasi sukrosa yang ditambahkan pada media substrat *starter* alami maka kadar vitamin C, total asam, rendemen dan nilai organoleptik semakin meningkat. Selain itu diperkuat dari penelitian yang dilakukan oleh Jaya (2013) dengan perlakuan konsentrasi sukrosa 30% menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian Azhara (2012) dimana konsentrasi sukrosa yang tinggi menghasilkan kadar vitamin C, total asam, dan nilai organoleptik pada pembuatan *starter* alami sari buah masam.

Fungsi sukrosa dalam pembuatan *starter* alami yaitu sebagai sumber energi, maupun sumber karbon untuk membentuk senyawa metabolit diantaranya adalah selulosa yang kemudian membentuk lapisan putih.

Menurut Hidayat (2011), proses inkubasi yang baik dalam pembentukan lapisan putih pada pembuatan *starter* alami berkisar antara 28-32°C.

Waktu inkubasi *starter* kurang lebih membutuhkan suhu 28-32°C. Setelah mencapai suhu optimal, pada umumnya campuran *starter* tersebut akan berubah warnanya menjadi lapisan putih.

Pengendalian proses selama inkubasi juga perlu mendapat perhatian. Selama proses inkubasi, suhu harus dikendalikan. Diperlukan pengalaman untuk menghentikan proses inkubasi agar diperoleh *starter* yang baik (Hidayat, 2011).

Lama inkubasi *starter* yaitu kurang lebih 3-4 hari dengan suhu 28-32°C, apabila inkubasi kurang lama dan suhu kurang dari 32°C maka *starter* kurang terbentuk. Selama inkubasi yang disertai dengan suhu yang konstan bertujuan

agar media substrat lebih stabil dan pada suhu 32°C akan mempercepat pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* alami (Hidayat, 2011).

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran tersebut diduga bahwa:

1. Perbandingan buah nanas madu dan sukrosa berpengaruh terhadap karakteristik *starter* alami.
2. Suhu inkubasi berpengaruh terhadap karakteristik *starter* alami.
3. Interaksi antara perbandingan buah nanas madu dan sukrosa serta suhu inkubasi berpengaruh terhadap karakteristik *starter* alami.

1.7 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini berlangsung mulai bulan Juli sampai dengan Desember 2016 di Laboratorium Mikrobiologi dan Kimia PT. Keong Nusantara Abadi yang berlokasi di Jalan Raya Branti, Km 18, Desa Bumisari Natar, Kabupaten Lampung Selatan.