

**PENGUKURAN KINERJA SEL IMOBIL KULTUR *Acetobacter xylinum* MENGGUNAKAN Na-alginat SEBAGAI MATRIKS
POLIMER UNTUK PRODUKSI NATA DE COCO
DI PT PATTAYA**

TUGAS AKHIR

**Karya tulis sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik dari
Universitas Pasundan**

**Oleh :
VELYA REGITA
NPM: 213020002**



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PASUNDAN
BANDUNG
2025**

ABSTRAK

Pengukuran Kinerja Sel Imobil Kultur *Acetobacter xylinum* Menggunakan Na-alginat Sebagai Matriks Polimer Untuk Produksi *Nata de coco* Di PT Pattaya

**Oleh
Nama: Velya Regita
NPM: 213020002
(Program Studi Teknologi Pangan)**

Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan *Nata de coco* yang tetap stabil ketika menggunakan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi dan dapat menambah nilai ekonomis produksi *Nata de coco*.

Penelitian ini menggunakan metode pengukuran efektifitas dengan cara membandingkan biaya produksi dan harga pokok produk (HPP) antara *Nata de coco* tanpa bantuan sel imobil dan *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil serta pengukuran efektivitas dengan cara mengukur ketebalan dan rendemen *Nata de coco* antara *Nata de coco* tanpa bantuan sel imobil dan *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil. Respon yang dilakukan yaitu enumerasi bakteri menggunakan metode TPC dan respon fisik yaitu ketebalan dan rendemen.

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan sel imobil kultur *Acetobacter xylinum* ekonomis serta efektif terhadap produksi *Nata de coco* di PT Pattaya.

Kata kunci: *Nata de coco*, Imobilisasi, Pengukuran nilai ekonomis, Pengukuran efektivitas.

Abstract

Measurement Of The Performance Of Immobilized Cells Of Acetobacter xylinum Culture Using Na-alginate As A Polymer Matrix To Produce Nata de coco At PT Pattaya

By:

Nama: Velya Regita

NPM: 213020002

(Departement of Food Technology)

This research aims to produce Nata de coco that remains stable when using immobilized *Acetobacter xylinum* bacteria and can increase the economic value of Nata de coco production.

This research uses an effectiveness measurement method by comparing production costs and the cost of goods sold (COGS) between Nata de coco without immobilized cells and Nata de coco with immobilized cells, as well as measuring effectiveness by measuring the thickness and yield of Nata de coco between Nata de coco without immobilized cells and Nata de coco with immobilized cells. The responses measured were bacterial enumeration using the TPC method and physical responses including thickness and yield.

The results of this study indicate that the use of immobilized *Acetobacter xylinum* cells is economical and effective for the production of Nata de coco at PT Pattaya.

Key words: Nata de coco, Immobilized, Economic value measurement, Effectiveness measurement

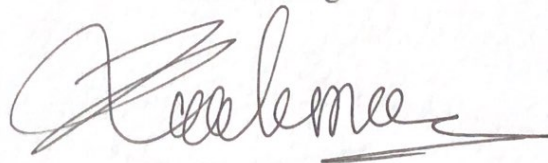
**PENGUKURAN KINERJA SEL IMOBIL KULTUR *Acetobacter xylinum* MENGGUNAKAN Na-alginat SEBAGAI MATRIKS
POLIMER UNTUK PRODUKSI NATA DE COCO
DI PT PATTAYA**

Oleh:
VELYA REGITA
NPM: 213020002
(Program Studi Teknologi Pangan)

Fakultas Teknik
Universitas Pasundan

Menyetujui :

Pembimbing

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jaka Rukmana', with a horizontal line underneath.

(Jaka Rukmana, S.T., M.T.)

PENGUKURAN KINERJA SEL IMOBIL KULTUR *Acetobacter xylinum* MENGGUNAKAN Na-alginat SEBAGAI MATRIKS POLIMER UNTUK PRODUKSI *NATA DE COCO* DI PT PATTAYA

Oleh:
VELYA REGITA
NPM: 213020002
(Program Studi Teknologi Pangan)

Fakultas Teknik
Universitas Pasundan

Menyetujui :

Koordinator Akademik Tugas Akhir
Dan Kerja Praktek Dan Kemahasiswaan

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized 'R' followed by a horizontal line and a small loop at the end.

(Rizal Maulana Gaffar., S.T., M.T.)

PEDOMAN PENGGUNAAN TUGAS AKHIR

Tugas akhir yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Fakultas dan Universitas, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Universitas Pasundan. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin penulis dan harus disertai dengan kaidah ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Sitasi hasil penelitian Tugas Akhir ini dapat ditulis dalam bahasa Indonesia sebagai berikut:

Regita, V. (2025): Pengukuran Kinerja Sel Imobil Kultur *Acetobacter xylinum* Menggunakan Na-alginat Sebagai Matriks Polimer Untuk Produksi *Nata de coco* Di PT Pattaya, Tugas Akhir Program Sarjana, Universitas Pasundan.

Dan dalam bahasa Inggris sebagai berikut:

Regita, V. (2025): *Measurement Of The Performance Of Immobilized Cells Of Acetobacter xylinum Culture Using Na-alginate As A Polymer Matrix To Produce Nata de coco At PT Pattaya, Bachelor's Thesis*, Universitas Pasundan

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh tugas akhir haruslah seizin Dekan Fakultas Teknik Universitas Pasundan.

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbil'alamin, segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat ALLAH SWT. Atas segala nikmat dan karunia-NYA yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Tugas Akhir ini yang berjudul: **“PENGUKURAN KINERJA SEL IMOBIL KULTUR *Acetobacter xylinum* MENGGUNAKAN Na-alginat SEBAGAI MATRIKS POLIMER UNTUK PRODUKSI NATA DE COCO DI PT PATTAYA”** sebagai salah satu syarat Tugas Akhir Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan. Penulisan Tugas Akhir ini tentunya jauh dari sempurna, hal ini sangat disadari karena keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. terselesaikannya Tugas Akhir ini, tentunya tak terlepas dari peranan begitu banyak pihak yang telah memberikan do'a, bantuan dan dukungan baik secara moril maupun materiil kepada penulis.

Dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini penulis menyadari bahwa tanpa bantuan, dukungan, bimbingan dari berbagai pihak, usulan penelitian ini tidak dapat terselesaikan dengan baik Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Jaka Rukmana, S.T., M.T., selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Ketua Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan yang telah memberikan arahan dan bimbingannya selama penulisan Tugas Akhir ini.
2. Rizal Maulana Gaffar, S.T., M.T., selaku coordinator Tugas Akhir dan Kerja Praktek dan Kemahasiswaan Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan.

3. Indah Sari Yuniarchisti S.T., selaku pihak perusahaan PT Pattaya yang sudah memberikan bantuan dan dukungan selama penyusunan Tugas Akhir penelitian ini.
4. Dr. Ir. Dede Zainal Arief, M.Sc., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran, masukan, dan ilmu yang bermanfaat bagi penulis untuk Tugas Akhir ini.
5. Dr. Yelliantty, S.Si., M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan saran, masukan, dan ilmu yang bermanfaat bagi penulis untuk Tugas Akhir ini.
6. Orang tua saya, Agus Salim dan Herawati terima kasih banyak yang tidak terhingga atas semua dukungan serta doa yang selalu dipanjatkan dan digaungkan sepanjang hari tiada henti kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan Tugas Akhir ini.
7. Teman seperjuangan penulis yaitu, Annisa Nurwina, Imeldayanti, Mahda Erlani, Putri Nurul yang selalu memberikan dukungan dan semangat selama penyusunan Tugas Akhir ini
8. Seseorang yang senantiasa menemani dan memberi semangat selama penyusunan tugas akhir ini yaitu, Maulana Rafi Alfari
9. Keluarga kimia analitik, Nira Hasmala, seluruh kaka-kaka dan adik-adik asisten kimia analitik, yang ikut serta membantu dan memberi dukungan selama penyusunan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih memiliki banyak kekurangan dan masih jauh dari kata sempurna dengan keterbatasan yang dimiliki penulis.

Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritikan dan saran yang membangun dari pembaca guna menyempurnakan Tugas Akhir ini.

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
ABSTRACT.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PEDOMAN PENGGUNAAN TESIS.....	v
KATA PENGANTAR	vvi
DAFTAR ISI	ixx
DAFTAR TABEL	.xii
DAFTAR GAMBAR.....	.xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	.xiii
 Bab I PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Identifikasi Masalah	5
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.5 Kerangka Pemikiran	6
1.6 Hipotesis Penelitian.....	8
1.7 Waktu dan Tempat Penelitian.....	8
 Bab II TINJAUAN PUSTAKA.....	 10
2.1 PT Pattaya	10
2.2 <i>Nata de coco</i>	11
2.3 <i>Acetobacter xylinum</i>	14
2.4 Imobilisasi.....	18
2.4.1 Na-alginat.....	21
2.4.2 Kalsium Klorida (CaCl ₂).....	24
2.5 Pengukuran Efektivitas	26
2.6 Pengukuran Nilai Ekonomis.....	27
 Bab III METODE PENELITIAN	 30
3.1 Bahan dan Alat.....	30
3.1.1 Bahan Penelitian	30
3.1.2 Alat penelitian	30
3.2 Metode Penelitian	31
3.2.1 Pengukuran Efektivitas	31
3.2.2 Pengukuran Nilai Ekonomis	32
3.2.3 Rancangan Respon	33
3.3 Prosedur Penelitian	34
3.3.1 Prosedur Penelitian Umum	34
3.3.2 Penelitian Tahap I.....	35
3.3.2.1 Pembuatan Sel Imobil	35
3.3.2.2 Enumerasi Bakteri Setelah Imobilisasi Metode TPC.....	39
3.3.3 Penelitian Tahap II	41

3.3.3.1	Pembuatan <i>Nata de coco</i> Dengan Bantuan Sel Imobil	41
3.3.3.2	Pemisahan Lapisan Nata dari Sel Imobil	42
3.3.4	Prosedur Pengukuran Efektivitas.....	44
3.3.4.1	Pengukuran Ketebalan <i>Nata de coco</i>	44
3.3.4.2	Prosedur Pengukuran Rendemen.....	45
3.3.5	Prosedur Pengukuran Nilai Ekonomis	46
3.4	Jadwal Penelitian	46
Bab IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	47
4.1	Hasil Penelitian Tahap I	47
4.1.1	Pembuatan Sel Imobil	47
4.1.2	Enumerasi Bakteri Setelah Imobilisasi Metode TPC	52
4.2	Hasil Penelitian Tahap 2.....	57
4.2.1	Pembuatan <i>Nata de coco</i>	57
4.2.2	Pemisahan Sel Imobil Dari Lapisan Nata	66
4.3	Pengukuran Efektifitas	69
4.3.1	Ketebalan <i>Nata de coco</i>	69
4.3.2	Rendemen <i>Nata de coco</i>	71
4.4	Pengukuran Nilai Ekonomis	74
4.5.1	Perhitungan Jumlah Produk yang dihasilkan Per Bulan	75
4.5.2	Perhitungan Harga Pokok Produksi PT Pattaya	77
4.5.3	Perhitungan Harga Pokok dengan bantuan sel imobil	81
4.5.4	Perbandingan Perhitungan Harga Pokok Produksi.....	85
Bab V	KESIMPULAN DAN SARAN	88
5.1	Kesimpulan.....	88
5.2	Saran	88
	DAFTAR PUSTAKA	90
	LAMPIRAN	96

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Standar Mutu Natrium Alginat.....	23
Tabel II.2	Karakteristik CaCl_2	24
Tabel IV.1	Analisis TPC Sel terimobilisasi.....	55
Tabel IV.2	Hasil Analisis TSS air kelapa	58
Tabel IV.3	Hasil Analisis pH Bahan Baku	61
Tabel IV.4	Statistik Ketebalan <i>Nata de coco</i>	69
Tabel IV.5	Data Statistik hasil analisis rendemen <i>Nata</i>	71
Tabel IV.6	Perhitungan jumlah produk yang dihasilkan tanpa bantuan sel imobil	76
Tabel IV.7	Perhitungan jumlah produk yang dihasilkan dengan bantuan sel imobil	76
Tabel IV.8	Perhitungan jumlah produk nata per kemasan.....	76
Tabel IV.9	Perhitungan Biaya Bahan Baku Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi	77
Tabel IV.10	Perhitungan Biaya Tenaga Kerja Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi	77
Tabel IV.11	Perhitungan Biaya Bahan Penolong Per Hari Dalam Satu Kali Produksi	78
Tabel IV.12	Biaya Pemeliharaan Peralatan Per Hari Dalam Satu Kali Produksi .	79
Tabel IV.13	Perhitungan Biaya Penyusutan Peralatan Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi	79
Tabel IV.14	Perhitungan Harga Pokok Produksi Per Bulan.....	80
Tabel IV.15	Perhitungan Biaya Bahan Baku Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi	81
Tabel IV.16	Perhitungan Biaya Tenaga Kerja Per Hari Dalam Satu Kali Produksi	81
Tabel IV.17	Perhitungan Biaya Bahan Penolong Per Hari Dalam Satu Kali Produksi	82
Tabel IV.18	Biaya Pemeliharaan Peralatan Per Hari Dalam Satu Kali Produksi .	82
Tabel IV.19	Perhitungan Biaya Penyusutan Peralatan Per Hari Dalam Satu Kali Produksi	83
Tabel IV.20	Perhitungan Harga Pokok Produksi Per Bulan.....	84
Tabel IV.21	Perbandingan Perhitungan Harga Pokok Produksi Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi	85

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	PT Pattaya.....	10
Gambar II.2	<i>Nata de coco</i>	12
Gambar II.3	Bakteri <i>Acetobacter Xylinum</i>	15
Gambar II.4	Skematis Teknik Imobilisasi	20
Gambar II.5	Struktur Alginat.....	23
Gambar II.6	CaCl ₂	25
Gambar II.7	Rumus Rendemen (%).....	27
Gambar III.1	Rumus Rendemen.....	32
Gambar III.2	Rumus Harga Pokok/Bungkus.....	33
Gambar III.3	Rumus Hasil Penjualan Produksi/Bulan	33
Gambar III.4	Prosedur Penelitian Umum Lanjutan	35
Gambar III.5	Pembuatan Larutan Na-Alginat	36
Gambar III.6	Pembuatan Larutan CaCl ₂	37
Gambar III.7	Pembuatan Sel Imobil	39
Gambar III.8	Enumerasi Bakteri Setelah Imobilisasi Metode TPC	40
Gambar III.9	Pembuatan <i>Nata de Coco</i>	42
Gambar III.10	Pemisahan Lapisan Serat Nata.....	44
Gambar III.11	Pengukuran Ketebalan <i>nata de coco</i>	45
Gambar III.12	Prosedur Pengukuran Hasil Rendemen	46
Gambar IV. 1	<i>Beads Acetobacter xylinum</i>	50
Gambar IV. 2	<i>Nata de coco</i> hasil fermentasi pertama.....	64
Gambar IV. 3	<i>Nata de coco</i> hasil fermentasi kedua.....	65
Gambar IV. 4	Hasil Pemisahan Sel Imobil dari Nata pada fermentasi pertama	67
Gambar IV. 5	Hasil Pemisahan Sel Imobil dari Nata pada fermentasi kedua	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Pengukuran Ketebalan Nata de coco (Novita, R., Hamzah, F., & Restuhadi, F. (2016))	96
Lampiran 2. Prosedur Pengukuran Rendemen Nata de coco (AOAC International, (2016))	96
Lampiran 3. Prosedur Pengukuran pH (Chen, L., & Li, Q. 2021).....	96
Lampiran 4. Prosedur Pengukuran TSS (Wahyudi dan Dewi, 2017).	97
Lampiran 5. Formulasi Pembuatan <i>Nata de coco</i> Tanpa Bantuan Sel Imobil	97
Lampiran 6. Formulasi Pembuatan <i>Nata de coco</i> Dengan Bantuan Sel Imobil...	97
Lampiran 7. Hasil Pengukuran pH Bahan Baku	98
Lampiran 8. Hasil Pengukuran TSS Bahan Baku	98
Lampiran 9. Hasil Pengukuran Rendemen	99
Lampiran 10. Hasil Pengukuran Ketebalan <i>Nata de coco</i>	100
Lampiran 11. Kebutuhan Bahan dan Biaya Penelitian	100
Lampiran 12. Dokumentasi	103
Lampiran 13. Jadwal Penelitian	109

I PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai: (1.1) Latar Belakang, (1.2) Identifikasi Masalah, (1.3) Maksud dan Tujuan Penelitian, (1.4) Manfaat Penelitian, (1.5) Kerangka Pemikiran, (1.6) Hipotesis Penelitian, (1.7) Tempat dan Waktu Penelitian

1.1 Latar Belakang

Nata merupakan salah satu produk olahan makanan yang tinggi serat, terbuat dari kumpulan sel bakteri yang memiliki tekstur kenyal, putih menyerupai *gel* dan terapung pada permukaan cairan. Produk olahan nata umumnya menjadi makanan pendamping berbagai macam makanan seperti dalam sirup, *yoghurt* dan makanan lainnya. (Ardiningsih dkk., 2018).

Nata berasal dari bahan yang mengandung selulosa, umumnya berasal dari air kelapa. *Nata de coco* merupakan produk olahan yang dihasilkan dari fermentasi air kelapa oleh bakteri *Acetobacter xylinum*, bakteri *Acetobacter xylinum* tumbuh pada media yang mengandung nutrisi, seperti gula sehingga nantinya akan terbentuk suatu lapisan kenyal karena sebagian gula disintesis menjadi selulosa atau nata. (Layuk dkk., 2022).

Terdapat beberapa faktor yang menjadi pengaruh terbentuknya *nata de coco*, salah satunya yaitu kualitas kultur bakterinya, yaitu *Acetobacter xylinum*. Starter *Acetobacter xylinum* selama pertumbuhannya akan memperbanyak jumlah koloni dan menghasilkan enzim pembentuk *nata de coco*. Starter juga berguna untuk adaptasi bakteri sebelum proses fermentasi. Keberhasilan nata yang

dihasilkan dalam proses fermentasi sangat bergantung terhadap banyaknya populasi *Acetobacter xylinum* yang ada di dalam *starter*. Selain itu jumlah populasi *Acetobacter xylinum* berperan penting dalam fermentasi menghasilkan *nata de coco*. (Hamad et al., 2024).

Pembuatan *nata de coco* di PT Pattaya masih dengan cara menginokulasi *Acetobacter xylinum* secara langsung ke dalam media kultur dari air kelapa. Metode inokulasi langsung selalu menyisakan sedikit *starter* jika akan digunakan untuk fermentasi selanjutnya, inokulasi *starter* secara langsung memiliki risiko kultur *starter* menjadi rentan terhadap kontaminasi. sebelum digunakan untuk fermentasi berikutnya mudah menyebabkan kontaminasi kultur. Kontaminasi yang terjadi pada proses fermentasi dapat mengakibatkan produksi *nata de coco* menjadi tidak stabil. Dengan demikian, untuk menjaga sel kultur *nata de coco* perlu alternatif lain, salah satunya dengan teknik imobilisasi. (Darmawan dan Pradipta., 2015).

Imobilisasi sel merupakan metode untuk mengurung atau menempatkan mikroba secara fisik sel dalam ruang tertentu di mana sel masih memiliki aktivitas katalitik dan dapat digunakan secara terus menerus dan berulang kali. Keadaan sel yang tidak bergerak ini dapat dalam keadaan tumbuh, istirahat, dan keadaan *autolysis*. Teknik imobilisasi sel menyebabkan terjerabnya sel dalam suatu matriks atau membran. Imobilisasi sel bertujuan untuk membuat sel menjadi tidak bergerak atau ruang gerakanya berkurang, sehingga sel menjadi terhambat pertumbuhannya dan substrat yang diberikan hanya digunakan untuk menghasilkan produk. (Darmawan dan Pradipta., 2015).

Imobilisasi diterapkan untuk melindungi sel dari lingkungan yang tidak menguntungkan dengan cara menjebak sel dalam suatu matriks hidrokoloid. Metode dalam imobilisasi ada tiga, yaitu *cross linking* (ikatan silang), *carrier binding* (adsorpsi), dan *entrapment* (penjerapan). (Mubarokah, 2018). Pada penelitian ini, imobilisasi menggunakan metode *entrapment*, dengan pertimbangan memiliki resiko kegagalan yang rendah dan mudah dilakukan. apabila dibandingkan dengan dua metode lainnya. Selain itu, metode *entrapment* merupakan yang paling banyak dikembangkan untuk imobilisasi sel. Metode ini dilakukan dengan membuat sel mikroorganisme terperangkap di dalam matriks polimer (Rahayu, 2018). Menurut Souza dkk., (2024), penjerapan (*entrapment*) merupakan salah satu teknik imobilisasi enzim dengan cara terperangkap enzim dalam matriks polimer yang berukuran mikro. Sedangkan menurut (Betha, 2019), metode *entrapment* ini didasarkan pada terjadinya inklusi enzim di dalam suatu jaringan atau matriks, yang bertujuan untuk mencegah sel berdifusi ke lingkungan atau medium disekitarnya, akan tetapi enzim tersebut masih dapat berinteraksi dengan substrat.

Imobilisasi dengan metode *entrapment* pada dasarnya membiarkan sel-sel menembus ke dalam matriks berpori hingga mobilitasnya (ruang gerak) terhalang oleh sel lain atau bahan berpori yang dibentuk ke dalam kultur sel. Metode *entrapment* ini didasarkan pada penyertaan sel dalam jaringan kaku untuk mencegah sel menyebar ke media sekitarnya, dengan tetap memungkinkan transfer massa nutrisi dan metabolit. Contoh karakteristik dari jenis imobilisasi ini adalah jebakan ke dalam *gel* polisakarida seperti alginat, k-karagenan, agar,

kitosan dan asam poligalakturonat atau matriks polimer lainnya seperti gelatin, kolagen dan polivinil alkohol. (Pratiwi dkk., 2021).

Matriks hidrogel alginat adalah salah satu pembawa yang paling umum digunakan dalam imobilisasi *entrapment*, karena keunggulannya yang signifikan seperti biokompatibilitas yang baik, biaya rendah, ketersediaan yang mudah, dan kesederhanaan persiapan. (Zhou dkk., 2020).

Alginat dalam bentuk garamnya yaitu natrium alginat, memiliki sifat mampu membentuk *gel* dengan cara berikatan dengan garam kalsium, salah satunya yaitu kalsium klorida (CaCl_2), yang berperan sebagai kation. Ion Ca^{+2} pada kalsium klorida berfungsi menguatkan struktur *gel* alginat. (Mubarokah, 2018).

Setiap metode imobilisasi memiliki kelebihan dan kekurangan. Namun, jika alginat digunakan dalam proses skala besar, seperti skala industri dapat membantu untuk mengurangi biaya produksi. Prosedur imobilisasi pada matriks alginat tidak hanya murah tetapi juga sangat mudah dilakukan dan memberikan kondisi yang sangat baik, sehingga potensi untuk aplikasi industri cukup besar dan menjanjikan. (Zhou dkk., 2020).

Pada penelitian sebelumnya diketahui bahwa konsentrasi optimum dari Na-alginat yaitu sebesar 3% dengan hasil *nata de coco* yang memiliki lapisan serat cukup tebal (Lathifa, 2024). Juga sel imobil dapat digunakan sebanyak 2 kali fermentasi, dengan kondisi viabilitas sel imobil yang masih tinggi, sehingga dapat disimpulkan sel imobil bisa dipergunakan kembali untuk fermentasi selanjutnya (Darmawan dan Pradipta, 2015), maka dari itu perlunya pengukuran sel imobil

Acetobacter xylinum dengan kondisi lingkungan di PT Pattaya untuk mengetahui efektifitas sel imobil *Acetobacter xylinum*. Sehingga nata yang dihasilkan tetap stabil juga proses produksi yang ekonomis.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat diidentifikasi masalah sebagai berikut:

1. Apakah sel imobil *Acetobacter xylinum* efektif untuk pembuatan *nata de coco* di kondisi proses produksi PT Pattaya.
2. Apakah secara nilai ekonomis pembuatan *nata de coco* yang dibantu dengan bakteri terimobilisasi di PT Pattaya dapat dikatakan layak atau tidak layak.

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dan tujuan penelitian ini adalah:

1. Maksud penelitian ini untuk mengukur nilai efektivitas & nilai ekonomis sel imobil *Acetobacter xylinum* dalam memproduksi *nata de coco* di PT Pattaya.
2. Tujuan penelitian ini untuk menghasilkan *nata de coco* yang tetap stabil ketika menggunakan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi dan dapat menambah nilai ekonomis produksi *nata de coco* di PT Pattaya.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah

1. Meningkatkan kualitas dan menambah nilai ekonomis pembuatan *nata de coco*
2. Penggunaan bakteri terimobilisasi yang efisien untuk pembuatan *nata de coco* di skala perusahaan

1.5 Kerangka Pemikiran

Menurut (Asril dkk., 2023) Keberlanjutan proses produksi produk fermentasi memerlukan *starter* kultur yang tersedia secara terus menerus dalam keadaan selalu siap pakai, dengan potensi yang maksimal yang mudah dikelola dan dapat disimpan dalam waktu lama dengan aktivitas produksi yang tetap tinggi. Kultur yang disimpan diharapkan dalam keadaan stabil, sehingga kualitas produk terjaga baik.

Menurut (Riyawati dkk., 2012) salah satu metode yang dapat digunakan untuk keberlanjutan proses produksi agar bisa digunakan secara terus menerus yaitu teknik imobilisasi sel mikroba yang dapat memudahkan pemurnian produk, memudahkan dalam mengontrol kestabilan sel, serta meningkatkan produktivitas.

Menurut (Hassanzadeh, dkk., 2017) Imobilisasi merupakan suatu metode untuk mengurung atau menempatkan sel mikroba secara fisik pada suatu ruang tertentu dimana sel masih memiliki aktivitas katalitik serta dapat dipergunakan secara berkelanjutan dan berulang kali, dalam proses imobilisasi sel-sel umumnya tumbuh dipermukaan atau terperangkap di dalam matriks, karena banyak mikroorganisme yang mampu melekat pada berbagai permukaan alami.

Menurut (Brena dan Batista, 2006) Ada beberapa metode imobilisasi yang dikenal antara lain yaitu adsorpsi fisik pada padatan pendukung (*carrier binding*),

taut silang (*cross linking*) dan penjebakan (*entrapment*). Dari ketiga metode tersebut yang paling sering digunakan adalah metode *entrapment*. Metode ini memiliki kelebihan karena dengan pertimbangan memiliki resiko kegagalan yang rendah dan mudah dilakukan. apabila dibandingkan dengan metode lainnya. Selain itu, metode *entrapment* merupakan yang paling banyak dikembangkan untuk imobilisasi sel.

Menurut (Pratiwi dkk., 2021) Imobilisasi dengan metode *entrapment* pada dasarnya membiarkan sel-sel menembus ke dalam matriks berpori hingga mobilitasnya (ruang gerak) terhalang oleh sel lain atau bahan berpori yang dibentuk ke dalam kultur sel. Metode *entrapment* ini didasarkan pada penyertaan sel dalam jaringan kaku untuk mencegah sel menyebar ke media sekitarnya, dengan tetap memungkinkan transfer massa nutrisidan metabolit, salah satu contoh matriks polimer nya yaitu alginat.

Menurut (Mubarakah, 2018) Alginat dalam bentuk garamnya yaitu natrium alginat, memiliki sifat mampu membentuk *gel* dengan cara berikatan dengan garam kalsium, salah satunya yaitu kalsium klorida (CaCl_2), yang berperan sebagai kation. Ion Ca^{+2} pada kalsium klorida berfungsi untuk menguatkan struktur *gel* alginat.

Menurut (Lathifa dkk., 2024) Na-Alginat dengan konsentrasi 3% merupakan konsentrasi terbaik untuk pembuatan sel imobil, sehingga menghasilkan sel imobil yang mempunyai tekstur elastis, tidak terlalu besar ataupun terlalu kecil (4 mm) yang ketika diaplikasikan pada pembuatan *nata de coco*, fermentasi yang

dilakukan berjalan dengan baik yang menghasilkan *nata de coco* dengan karakteristik lapisan serat cukup tebal dan stabil.

Menurut (Nafiatul, 2023) Aplikasi sel imobil dengan konsentrasi Na-alginat 3% menghasilkan *nata de coco* dengan karakteristik lapisan serat cukup tebal dan stabil (mendekati kontrol) ,sedangkan pada sel imobil dengan konsentrasi Na-alginat 4% dan 5% menghasilkan lapisan serat yang tipis.

Menurut (Darmawan dan Pradipta, 2015) setelah penggunaan sel imobil pada fermentasi yang kedua tidak ada perbedaan yang signifikan dengan fermentasi yang pertama pada *nata de coco*, viabilitas sel dari imobilisasi *Acetobacter xylinum* masih tinggi, sehingga penggunaan sel imobil bisa dilakukan kembali pada fermentasi berikutnya

1.6 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran yang telah diuraikan, maka hipotesis yang diajukan yaitu:

- a. Diduga bahwa penggunaan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi efektif untuk pembuatan *nata de coco* di PT Pattaya.
- b. Diduga bahwa secara nilai ekonomis penggunaan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi pada pembuatan *nata de coco* layak digunakan di PT Pattaya

1.7 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April hingga Juli 2025 di Laboratorium Penelitian Program Studi Teknologi Pangan Fakultas Teknik Universitas Pasundan Bandung.

II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini membahas tentang: (2.1) PT Pattaya (2.2) *Nata de coco* (2.3) *Acetobacter xylinum* (2.4) Imobilisasi (2.5) Pengukuran Efektivitas (2.6) Pengukuran Nilai Ekonomis

2.1 PT Pattaya

Didirikan pada tahun 1996, PT. Pattaya merupakan satu-satunya perusahaan di Cirebon yang memproduksi minuman *nata de coco*, dengan nama CV. Citra daya utama. PT. Pattaya telah memproduksi produk dengan merek COCOYA dan FRESHCOCO. PT. Pattaya memproduksi produk berbahan dasar kelapa yang berkualitas tinggi, berupa *nata de coco*, agar-agar, minuman nata dan lain sebagainya. PT. Pattaya juga memproduksi *nata de coco* sendiri. Selain memperhitungkan sistem penerapan GMP dalam prosesnya. PT. Pattaya juga memberdayakan masyarakat dan petani lokal dan sekitarnya dengan menciptakan produk inovatif yang dapat dipasarkan dan menguntungkan bagi perusahaan serta menyehatkan bagi pelanggan.



Gambar II.1 PT Pattaya

Sumber: (<https://lokercirebon.com/>)

PT Pattaya dalam proses produksinya masih menggunakan cara menginokulasi *Acetobacter xylinum* secara langsung ke dalam media kultur dari air kelapa. Metode inokulasi langsung selalu menyisakan sedikit *starter* jika akan digunakan untuk fermentasi selanjutnya, inokulasi *starter* secara langsung memiliki risiko kultur *starter* menjadi rentan terhadap kontaminasi. Sebelum digunakan untuk fermentasi berikutnya mudah menyebabkan kontaminasi kultur. Kontaminasi yang terjadi pada proses fermentasi dapat mengakibatkan produksi *nata de coco* menjadi tidak stabil. Dengan demikian, untuk menjaga sel kultur *nata de coco* perlu alternatif lain, salah satunya dengan teknik imobilisasi (Darmawan dan Pradipta, 2015).

Bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi diharapkan dapat efektif untuk diterapkan di kondisi lingkungan PT Pattaya, karena mudah diterapkan, selain itu hasil produksi *nata de coco* menjadi stabil serta biaya produksi pun menjadi berkurang karena tidak perlu terus menerus membeli *starter* baru setiap kali produksi.

2.2 Nata de coco

Nata de coco adalah sejenis makanan yang mengandung kadar serat tinggi, dan sudah dikenal luas oleh masyarakat Indonesia. *Nata de coco* biasanya dikonsumsi sebagai pendamping minuman segar yang ditambahkan ke dalam sirup, ke dalam agar jeli, *fruit cocktail*, dan lain-lain. Disamping itu, nata merupakan lapisan polisakarida ekstraseluler (selulosa) yang dibentuk oleh kumpulan sel bakteri pembentuk kapsul. Nata berbentuk padat, yang berwarna

putih, transparan, bertekstur kenyal, menyerupai *gel* dan terapung pada bagian permukaan cairan. (Santi, dkk., 2021).



Gambar II.2 *Nata de coco*

Sumber: (<https://vinut.com/>)

Nata de coco merupakan produk makanan yang berasal dari Filipina. Jenis makanan ini diperoleh melalui proses fermentasi. *Nata de coco* merupakan produk pangan yang relatif baru diperkenalkan di Indonesia tetapi produk ini sudah dikenal luas oleh masyarakat. *Nata de coco* dihasilkan oleh suatu spesies bakteri penghasil asam asetat yaitu *Acetobacter xylinum*. Bakteri ini dapat membentuk folikel tebal di atas permukaan medium, folikel tebal tersebut yang disebut nata (Putranto, 2017)

Pengolahan *nata de coco* dengan menggunakan bahan baku air kelapa memerlukan beberapa bahan tambahan lain. komposisi bahan tambahan tersebut terdiri dari sumber nitrogen, sumber karbon, sumber asam asetat serta sumber mineral. Adapun N berfungsi untuk menyediakan sumber protein bagi bakteri untuk perkembangbiakan sel yang akan mempengaruhi selulosa yang terbentuk. (Putranto, 2017)

Air kelapa memiliki sumber nutrisi yang dibutuhkan untuk pembuatan nata, akan tetapi kebutuhan akan substrat makro seperti sumber C dan N masih harus tetap ditambah agar hasil nata yang dihasilkan optimal, sehingga kekurangan nutrisi yang diperlukan harus ditambahkan dalam proses fermentasi. Sebagai sumber Karbon dapat ditambahkan gula, seperti sukrosa, glukosa, fruktosa. Sedangkan sebagai sumber nitrogen dapat ditambahkan urea, ZA atau ammonium sulfat dan ekstrak *yeast*. (Hamad dkk., 2023)

Secara singkat, mekanisme kerja *Acetobacter xylinum* dalam membuat matriks nata adalah dengan mengubah sukrosa yang ada di media fermentasi menjadi selulosa. Selulosa ini kemudian dikeluarkan oleh bakteri di luar sel, prekursor glukosa tersebut akan dipolimerisasi (digabungkan menjadi rantai panjang) oleh enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri. Proses polimerisasi ini menghasilkan rantai-rantai selulosa yang sangat murni. Rantai-rantai selulosa yang telah terbentuk akan saling berikatan satu sama lain melalui ikatan hidrogen. Ikatan-ikatan ini membentuk jalinan atau jaringan serat selulosa yang semakin lama semakin menebal dan padat, yang disebut sebagai nata. Proses ini merupakan contoh dari biosintesis selulosa oleh bakteri. (Ningsih dkk., 2021)

Sintesis *nata de coco*, yang merupakan selulosa bakterial yang dihasilkan oleh *Acetobacter xylinum*, merupakan proses yang terjadi secara intaseluler (di dalam sel) dan hasil produknya ekstraseluler (di luar sel bakteri). (Ningsih dkk., 2021)

Dalam perkembangan pada saat ini pembuatan *nata de coco* telah menyebar ke berbagai industri, seperti dari rumah tangga sampai industri berskala

besar. Industri *nata de coco* dapat tumbuh dengan pesat dikarenakan *nata de coco* merupakan salah satu produk makanan yang banyak disukai masyarakat dan dapat dikonsumsi oleh semua kalangan, selain itu juga karena harganya yang terjangkau.

Kriteria nata yang berkualitas dapat dilihat dari segi kandungan bahan gizi (protein, karbohidrat, lemak, air, abu, dan kadar serat), segi organoleptik (bau, rasa, warna, dan tekstur), segi penampakan produk (berat basah dan ketebalan produk), dan dari kemudahan serat nata untuk dipisahkan. (Santi, dkk, 2021)

2.3 *Acetobacter xylinum*

Acetobacter xylinum adalah bakteri Gram negatif aerobik yang menghasilkan selulosa ekstraseluler ketika dibudidayakan dalam kehadiran gula pada pH 5 hingga 7 dan pada suhu 25 hingga 30 °C. Sel-sel dari *Acetobacter* memproduksi selulosa di hadapan oksigen dan glukosa. *Acetobacter xylinum* telah banyak digunakan untuk penelitian dasar dan terapan tentang selulosa karena kemampuannya untuk mensintesis sejumlah besar polimer ketika dibudidayakan pada berbagai sumber karbon dan nitrogen. (Maharani, 2017)

Kedudukan bakteri *Acetobacter xylinum* menurut Holt & Henrick (1994) adalah sebagai berikut :

Divisio : Protophyta

Kelas : Schizomycetes

Ordo : Pseudomodales

Famih : Pseudomonaceae

Genus : Acetobacter

Species : Acetobacter xylinum



Gambar II.3 Bakteri *Acetobacter Xylinum*

Sumber: (<https://fineartamerica.com/>)

Komponen utama dari *nata de coco* adalah selulosa. Selama produksi nata de coco, *Acetobacter xylinum* memetabolisme glukosa dalam air kelapa yang berperan sebagai sumber karbon dan mengubahnya menjadi selulosa ekstraseluler sebagai metabolit. *Acetobacter xylinum* adalah bakteri asam asetat, yang dikenal karena kemampuannya untuk mengoksidasi berbagai jenis alkohol dan gula menjadi asam asetat. (Halib dkk., 2022)

Sifat yang membedakan antara *Acetobacter xylinum* dengan bakteri asam asetat lain seperti *Acetobacter aceti* dan *Acetobacter orleanensis* yaitu *Acetobacter xylinum* jika ditumbuhkan dalam media yang mengandung gula dapat memecah komponen gula dan membentuk suatu polisakarida yang dikenal dengan *extracellular cellulose*, sehingga bakteri ini biasa disebut sebagai bakteri polisakarida. (Alviani, 2018)

Selulosa mikroba dihasilkan dari bakteri yang berasal dari banyak spesies; namun, hanya spesies *Acetobacter* yang menghasilkan selulosa yang cukup untuk memenuhi kepentingan komersial. Yang paling banyak Anggota spesies

Acetobacter yang paling banyak dipelajari adalah *Acetobacter xylinus*, yang sebelumnya dikenal sebagai *Acetobacter xylinum* yang digunakan dalam penelitian ini sebagai penghasil selulosa. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif, bakteri gram negatif yang dapat ditemukan secara alami pada buah yang matang dan busuk di mana lingkungan lembam dari bakteri ini membuatnya sangat sensitif terhadap lingkungan yang keras, lingkungan yang keras tidak mempengaruhi pertumbuhan *Acetobacter xylinum* tetapi secara tidak langsung mempengaruhi produksi selulosa karena selulosa negative. (Lestari dkk., 2023)

Selulosa merupakan rantai tidak bercabang yang saling berikatan paralel satu sama lain. Sifat selulosa diantaranya tidak larut dalam air, eter, alkohol; tidak dapat dicerna oleh enzim pencernaan manusia tetapi akan terhidrolisis oleh asam kuat (H_2SO_4) Selulosa yang terbentuk berupa benang-benang yang bersama-sama dengan polisakarida berlendir membentuk suatu jalinan secara terus-menerus menjadi lapisan nata. Terbentuknya pelikel (lapisan tipis nata) mulai dapat terlihat di permukaan media cair setelah 24 jam inkubasi, bersamaan dengan terjadinya proses penjernihan cairan di bawahnya. Jaringan halus yang transparan yang terbentuk di permukaan membawa sebagian bakteri terperangkap di dalamnya. Gas CO_2 yang dihasilkan secara lambat oleh *Acetobacter xylinum* menyebabkan pengapungan ke permukaan. (Lestari dkk., 2023)

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dari *Acetobacter xylinum* diantaranya adalah nutrisi, sumber karbon, sumber nitrogen, tingkat keasaman media, temperatur dan udara (oksigen). Senyawa karbon yang dibutuhkan dalam fermentasi nata berasal dari monosakarida dan disakarida. Sumber dari karbon

yang paling banyak digunakan adalah gula. Sedangkan sumber nitrogen dapat berasal dari bahan organik seperti ZA, NPK dan urea. Meskipun bakteri *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh pada pH 3,5 – 7,5, namun bakteri ini akan dapat tumbuh optimal pada pH 4,3. Suhu yang ideal untuk pertumbuhan *Acetobacter xylinum* adalah pada suhu 28 – 31°C. Bakteri ini sangat memerlukan oksigen, sehingga dalam proses fermentasi tidak perlu ditutup rapat, tetapi hanya ditutup agar mencegah kotoran masuk ke dalam media yang dapat mengakibatkan kontaminasi (Putranto, 2017).

Bakteri *Acetobacter xylinum* mengalami pertumbuhan sel. Pertumbuhan sel ini didefinisikan sebagai pertumbuhan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup. Bakteri *Acetobacter xylinum* mengalami beberapa fase pertumbuhan sel yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase pertumbuhan eksponensial, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan tetap, fase menuju kematian, dan fase kematian. (Alviani, 2018)

Fase pertumbuhan adaptasi dicapai pada 0-24 jam sejak inokulasi. Fase pertumbuhan awal dimulai dengan pembelahan sel dengan kecepatan rendah. Fase ini berlangsung beberapa jam saja. Fase eksponensial dicapai antara 1-5 hari. Pada fase ini bakteri mengeluarkan enzim ekstraseluler polimerase sebanyak-banyaknya fungsinya untuk menyusun polimer glukosa menjadi selulosa (matrik nata). Fase ini berperan menentukan kecepatan suatu strain *Acetobacter xylinum* dalam membentuk nata (Alviani, 2018)

Fase pertumbuhan lambat terjadi karena nutrisi telah berkurang, terdapat metabolik yang bersifat racun yang menghambat pertumbuhan bakteri dan umur

sel sudah tua. Pada fase ini pertumbuhan tidak stabil, tetapi jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak dibanding jumlah sel mati. Fase pertumbuhan tetap terjadi keseimbangan antara sel yang tumbuh dan yang mati. Matriks nata lebih banyak diproduksi pada fase ini. Fase menuju kematian terjadi akibat nutrisi dalam media sudah hampir habis. Setelah nutrisi habis, maka bakteri akan mengalami fase kematian. Pada fase kematian sel cepat mengalami kematian. Bakteri hasil dari fase ini tidak disarankan untuk strain nata (Alviani, 2018)

2.4 Imobilisasi

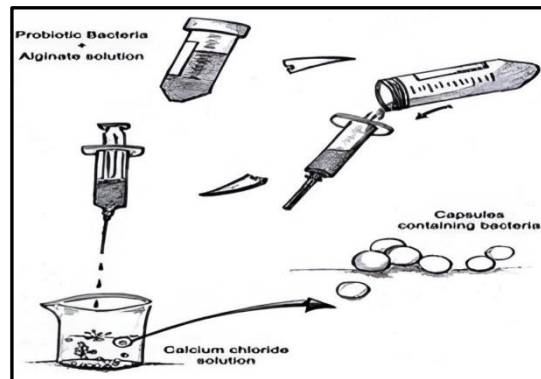
Adanya inhibitor di lingkungan dapat mengganggu pertumbuhan mikroba dan kondisi lingkungan yang relatif berubah bisa membuat mikroba tidak lagi mampu bertahan dan tumbuh, Salah satu cara yang dapat digunakan adalah dengan menjerat mikroba didalam suatu matriks penjerat atau yang disebut dengan metode imobilisasi. Metode ini populer dalam penelitian di bidang mikrobiologi. Metode ini digunakan karena sel terimobilisasi mudah dikendalikan, matriksnya stabil, dan tidak toksik. (Basyal dkk., 2023)

Imobilisasi adalah suatu teknik sel dilokalisasi pada suatu ruang tertentu dengan mempertahankan aktivitas katalitiknya, sehingga sel dapat digunakan berulang-ulang. Teknik imobilisasi sel akan memberikan beberapa keuntungan seperti sel dapat digunakan secara berulang, aktivitas katalitik enzim dapat dipertahankan, peningkatan stabilitas enzim, menghasilkan produk yang bebas enzim, dan tentunya efisiensi biaya. (Sutrisno, 2017).

Pada pembuatan butiran sel amobil terdapat beberapa teknik, diantaranya dengan membuat desintegrasi sel ke dalam blok-blok polimer secara mekanik.

Cara ini menghasilkan keseragaman partikel yang rendah. Cara lain adalah dengan membekukan sel bersama-sama dengan matriknya, setelah itu diperkecil ukurannya dengan pemotongan. Cara ini juga efisien untuk pembuatan dalam skala besar. (Brodelius, 1987). Cara ketiga dengan membuat sel menjadi manik-manik atau butiran (*Sphere*) bersama-sama dengan matriknya yang letaknya ditengah pori, teknik ini dikenal dengan nama *spherification*, yaitu proses menjadikan cairan menjadi jeli (*gelification*) berbentuk bola-bola (*sphere*) saat terendam air. Pada enkapsulasi bakteri dalam *beads*, posisi bakteri berada di dalam matriks *beads* (terjebak di bagian inti atau tengah *beads*). Bakteri tidak berada di permukaan, melainkan dilindungi oleh matriks polimer yang membentuk *beads* tersebut (Winarno dan Sergio, 2017) . Cara ketiga ini yang akan digunakan pada penelitian ini

Teknik *spherification* ini penerapannya sangat sederhana, tanpa proses tambahan lain seperti pemanasan, dan alat yang digunakan mudah didapat yaitu *syringe*, *sphere* yang terbentuk memiliki membran tipis dan berisi bakteri *Acetobacter xylinum*. Ada dua teknik utama untuk menciptakan *sphere*, diantaranya yaitu; *basic spherification* (teknik merendam bakteri dengan natrium alginat dalam larutan kalsium) dan *reserved spherification* (teknik merendam bakteri dengan kalsium dalam larutan alginat) (Winarno dan Sergio, 2017). Dalam penelitian ini menggunakan teknik *basic spherification*.



Gambar II.4 Skematis Teknik Imobilisasi

Imobilisasi memiliki 8 teknik yaitu *attachment* (penempelan), *containment* (kurungan), *entrapment* (penangkapan), *carrier binding*, *adsorption technique*, *encapsulation*, *cell coating* dan *self aggregation* (Chen dkk., 2017). Imobilisasi mikroorganisme dengan *entrapment* matriks gel merupakan metode yang baik untuk mempertahankan viabilitas mikroorganisme, sebagai pelindung sehingga memperpanjang usia mikroorganisme dan juga sebagai nutrisi bagi mikroorganisme itu sendiri. (Le-Tien dkk., 2024).

Metode imobilisasi *entrapment* dengan kisi matriks kalsium alginat merupakan metode pemerangkapan enzim berdasarkan pada penempatan enzim dalam kisi-kisi matriks polimer kalsium alginat. Kelebihan metode ini ialah memberi hasil enzim imobil lebih stabil, tidak terjadi ikatan secara kimia antara enzim dengan kisi matriks enzim sehingga tidak akan mengubah struktur enzim amilase, tidak menghalangi gugus fungsi di pusat aktif enzim, serta menghasilkan retensi konfirmasi enzim aktif dengan efektivitas dan efisiensi imobilisasi cukup tinggi. (Daudi, 2022)

Entrapment merupakan jenis imobilisasi sel yang memungkinkan sel mikrobial hanya mampu bergerak di dalam pengemban. Mikrobial yang terperangkap di

dekat permukaan memiliki aktivitas metabolik yang lebih tinggi dibandingkan di bagian dalam pengemban. Metode ini telah sering digunakan dalam proses bioremediasi di Indonesia dikarenakan metodenya cepat dan mudah, tidak beracun serta murah, juga kemungkinan lepasnya sel mikrobial dari pengemban sangat rendah. Faktor yang paling penting pada metode jenis ini adalah rasio ukuran pori-pori pengemban. Jika rasio pori-pori pengemban lebih besar dibandingkan sel yang diimobilisasi, maka kemungkinan sel dapat dengan mudah terlepas dari pengemban tersebut. (Dzionek dkk., 2016)

Imobilisasi dengan metode *entrapment* pada dasarnya membiarkan sel-sel menembus ke dalam matriks berpori hingga mobilitasnya (ruang gerak) terhalang oleh sel lain atau bahan berpori yang dibentuk ke dalam kultur sel. Metode *entrapment* ini didasarkan pada penyertaan sel dalam jaringan kaku untuk mencegah sel menyebar ke media sekitarnya, dengan memungkinkan transfer massa nutrisidan metabolit, salah satu contoh matriks polimer yang digunakan yaitu alginat. (Mubarokah, dkk., 2018)

Alginat dalam bentuk garamnya yaitu natrium alginat, memiliki sifat mampu membentuk *gel* dengan cara berikatan dengan garam kalsium, salah satunya yaitu kalsium klorida (CaCl_2), yang berperan sebagai kation. Ion Ca^{+2} pada kalsium klorida berfungsi menguatkan struktur *gel* alginat. (Mubarokah, 2018).

2.4.1 Na-alginat

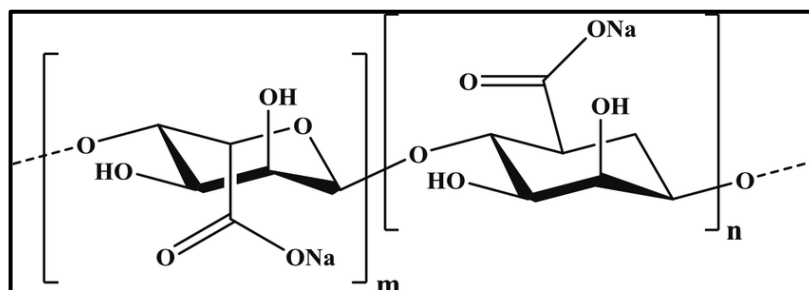
Alginat adalah polisakarida linier yang dibangun sebagai α -L-guluronat (G) dan C5 epimer β D-mannuronat (M), blok homopolimer

(polimanuronat dan poliguluronat), dan berulir sebagai blok heteropolimer (blok GM alternative blok GM alternatif atau blok G / M). Guluronat dan mannuronat adalah uronat dengan gugus karboksil pada C5, setiap konfigurasi menunjukkan perbedaan antara dua piranosa. Alginat adalah bagian tak larut dari alga dan berlangsung dalam matriks interseluler sebagai gel yang terdiri dari Natrium, Kalsium, Magnesium, Strontium dan ion Barium. Komposisi ionik itu ditentukan oleh keseimbangan pertukaran ion dan air laut. (Wulandari, dkk, 2019).

Alginat adalah polisakarida alam yang umumnya terdapat pada dinding sel dari semua spesies alga coklat (*phaeophyceae*), dalam porositasnya Alginat cenderung lebih berpori dan memiliki struktur yang lebih terbuka. Asam alginat ditemukan, diekstraksi pertama sekali dan dipatenkan oleh seorang ahli kimia dari Inggris Stanford tahun 1880 dengan mengekstraksi *Laminaria stenophylla*. Kelarutan alginat dan kemampuannya mengikat air bergantung pada jumlah ion karboksilat, berat molekul dan pH. Kemampuan mengikat air meningkat jika jumlah ion karboksilat semakin banyak dan jumlah residu alginat kurang dari 500, sedangkan pada pH di bawah 3 terjadi pengendapan. (McHugh, 2003).

Na-Alginat mudah beragregasi dan membentuk *gel* fisik dengan adanya kation. Asosiasi rantai, dan pada akhirnya struktur dan mekanik *gel*, tidak hanya bergantung pada jenis ion, tetapi juga pada urutan dan komposisi rantai alginat yang pada akhirnya menentukan kekakuannya. Fleksibilitas rantai umumnya diyakini menurun dengan kandungan residu guluronat, tetapi juga

diketahui bahwa blok polimanuronat dan poliguluronat lebih kaku daripada blok heteropolimer. (Hadast Hecht dan Simcha Sbrenik, 2016)



Gambar II.5 Struktur Alginat

Sumber: (Tetra., 2016)

Alginat memiliki sifat-sifat utama:

1. Kemampuan untuk larut dalam air serta meningkatkan viskositas larutan
2. Kemampuan untuk membentuk *gel*
3. Kemampuan membentuk *film* (natrium atau kalsium alginat) dan serat (kalsium alginat) (Tetra, 2016).

Faktor-faktor yang mempengaruhi sifat-sifat larutan alginat adalah suhu, konsentrasi, dan ukuran polimer. Faktor kimia yang berpengaruh adalah sequestran (pengikat logam) serta garam monovalen dan kation polivalen (Cottrel, 1980). Berdasarkan *Food Chemical Codex* umumnya natrium alginat mempunyai sifat-sifat dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel II.1 Standar Mutu Natrium Alginat

Karakteristik	Natrium Alginat
Kemurnian (%)	90,8 – 106
Kadar Air (%)	5 – 20
Kadar Abu (%)	18 – 27
Warna Bubuk	Gading
Kadar Pb (ppm)	< 10

Logam Berat (%)	< 0,004
Kadar As (ppm)	< 3
Susut Kering (%)	< 15

Sumber: (Cottrel, 1980)

2.4.2 Kalsium Klorida (CaCl_2)

Calcium Chloride (CaCl_2) merupakan senyawa ionik dimana terdiri atas dua unsur, yakni kalsium dan klorin. *Calcium Chloride* merupakan garam berwarna putih yang memiliki sifat higroskopis terhadap air. Higroskopis merupakan kemampuan sebuah zat dalam menyerap molekul air dari lingkungannya, dengan cara adsorpsi. Sebuah zat dapat disebut sebagai higroskopis jika memiliki daya serap yang baik terhadap molekul air. (Zenius, 2020).

Kalsium klorida (CaCl_2) merupakan garam berwarna putih yang mempunyai sifat higroskopis terhadap air dan memiliki kandungan panas yang besar hingga dapat mengikat air dan larut di dalamnya. Kemampuan kalsium klorida dalam mengikat air pun berbeda-beda tergantung jumlah mol hidrat yang terkandung di dalamnya. Kalsium klorida memiliki beberapa macam hidrat, seperti anhidrat, dihidrat, tetrahidrat dan hexahidrat. Kalsium klorida anhidrat memiliki rumus kimia $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi hingga 80-99 % berat, sedangkan kalsium klorida dihidrat memiliki rumus kimia $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dengan konsentrasi 75,49 % berat. (Tetra, 2016)

Gambar II.6 CaCl_2

Sumber: (Nafiatul, 2023)

Menurut (Wike, 2013) karakteristik CaCl_2 dapat dilihat dalam tabel berikut:

Tabel II.2 Karakteristik CaCl_2

Karakteristik	CaCl_2
Bentuk	Kristal
Warna	Putih
Titik Didih	1600°C
Titik lebur	782°C
Spesific Gravity	2,15
Kelarutan	Mudah larut dalam <i>alcohol</i>
Kelarutan di Air	740g/L pada 20°C

Sumber: (Wike, 2013)

Kemampuan kalsium klorida dalam mengikat air semakin menurun seiring dengan bertambahnya jumlah mol hidrat dalam kalsium klorida (Ihsanudin, 2017). Senyawa kalsium yang terdapat di CaCl_2 memiliki banyak manfaat seperti menormalkan tekanan darah, meminimalkan penyusutan tulang, memperlancar pergerakan otot, dan mengatasi kram (Alfionita dan Zainul, 2019). Menurut Liu dkk., (2022), ion Ca^{2+} pada CaCl_2 selama proses pengawetan telur asin menyebabkan pembentukan ikatan jembatan karboksil

yang meningkatkan sifat gelasi albumen. Ion Ca termasuk golongan IIA pada tabel periodik unsur yang disebut juga golongan alkali tanah, dimana senyawanya tergolong reaktif dan kalsium bereaksi lebih cepat dengan air. (Ihsanudin, 2017).

2.5 Pengukuran Efektivitas

Kata efektif berasal dari Bahasa Inggris *effective* artinya berhasil, sesuatu yang dilakukan dengan baik, efektivitas adalah kegunaan, aktivitas, dan kesesuaian dalam satu situasi antara seseorang yang melakukan tugas dan tujuan yang dicapai. (Kamus Besar Bahasa Indonesia, 2018)

Efektivitas adalah hubungan antara tujuan dan hasil, efektif artinya menggunakan biaya sekecil-kecilnya untuk memberikan hasil yang sebesar-besarnya. (Mahmudi, 2019)

Efektivitas (*effectiveness*) berkenaan dengan apakah suatu alternatif mencapai hasil (akibat) yang diharapkan, atau mencapai tujuan dari diadakannya tindakan. Pada penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui efektivitas dari bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi. (Mahmudi, 2019)

Mengukur efektivitas bukanlah suatu hal yang sangat sederhana, karena efektivitas dapat dikaji dari berbagai sudut pandang dan tergantung pada siapa yang menilai serta menginterpretasikannya.

Tingkat efektivitas juga dapat diukur dengan membandingkan antara rencana yang telah ditentukan dengan hasil nyata yang telah diwujudkan. Namun, jika usaha atau hasil pekerjaan dan tindakan yang dilakukan tidak tepat sehingga

menyebabkan tujuan tidak tercapai atau sasaran yang diharapkan, maka hal itu dikatakan tidak efektif.

Pada Penelitian ini dan iqbal pengukuran efektivitas dengan cara mengukur ketebalan *nata de coco* dan menghitung % rendemen *nata de coco*, yang dimaksudkan untuk mengetahui seberapa efektif penggunaan sel imobil terhadap pembuatan *nata de coco*.

Pengukuran ketebalan *nata de coco* caranya cukup sederhana karna hanya menggunakan jangka sorong, dengan mengukur segala sisi *nata de coco*, setelah itu diukur % rendemen dengan rumus berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Nata}}{\text{Berat Medium}} \times 100\%$$

Gambar II.7 Rumus Rendemen (%)

2.6 Pengukuran Nilai Ekonomis

Ekonomis adalah hubungan antara nilai uang dan masukan atau praktik pembelian barang dan jasa pada kualitas yang diinginkan dan pada harga terendah. Setiap kegiatan operasional dikatakan ekonomis bila dapat dihilangkan atau mengurangi biaya yang dianggap tidak perlu. (Abdul dan Iqbal 2019).

Biaya merupakan elemen penting dari suatu perusahaan. Biaya mencerminkan pengukuran moneter dari sumber daya yang dihabiskan untuk mencapai suatu tujuan seperti memproduksi barang. (Daljono, 2021).

Biaya produksi merupakan faktor penting yang perlu diperhatikan oleh perusahaan dalam melakukan produksi. Hal ini dikarenakan setiap perusahaan pasti ingin mendapatkan keuntungan yang besar dalam setiap usaha produksinya.

Oleh karena itu, pada penelitian ini akan mengukur penggunaan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi pada produksi *nata de coco*.

Biaya produksi sering disebut ongkos produksi. Berdasarkan pengertian tersebut, biaya produksi adalah total biaya yang dikorbankan untuk menghasilkan suatu produk hingga produk itu mencapai pasar, atau sampai ke tangan konsumen.

Biaya produksi berhubungan dengan harga produk, yang di mana jika biaya produksi rendah, harga produk tetap stabil dan keuntungan/laba akan tinggi jika biaya produksi tinggi, harga produk tidak stabil maka keuntungan/laba semakin rendah, maka dari itu perlu nya pengukuran nilai ekonomis atau studi kelayakan bisnis, untuk mengukur apakah dengan cara imobilisasi sel dalam produksi *nata de coco* di PT Pattaya lebih ekonomis daripada cara inokulasi yang sudah diterapkan sebelumnya.

Biaya produksi adalah biaya yang dikeluarkan untuk mengolah bahan baku menjadi produk (Mulyadi, 2015). Biaya produksi mengacu pada semua biaya yang terkait dengan produk yang diperoleh, termasuk komponen biaya produk seperti biaya bahan baku, biaya tenaga kerja langsung, biaya overhead pabrik. Biaya produksi merupakan biaya-biaya yang terjadi untuk mengolah bahan baku menjadi produk jadi yang siap untuk dijual (Hermanto, 2017). Biaya produksi adalah biaya-biaya yang dianggap melekat pada produk, meliputi biaya, baik biaya langsung maupun tidak langsung dapat didefinisikan dengan kegiatan pengelolaan bahan baku menjadi produk. Secara garis besar biaya produksi ini dibagi menjadi biaya bahan baku, biaya tenaga kerja langsung dan biaya overhead (Mulyadi, 2015).

Biaya produksi terdiri dari beberapa unsur yaitu; Biaya bahan baku langsung, biaya tenaga kerja langsung, dan biaya overhead pabrik adalah tiga kelompok biaya dalam laporan harga pokok produksi.

1. Biaya Bahan Baku Langsung

Bahan baku merupakan bahan yang membentuk bagian menyeluruh produk jadi. Bahan baku diolah dalam perusahaan manufaktur dapat diperoleh dari pembelian lokal, impor (Mulyadi, 2015)

2. Biaya Tenaga Kerja Langsung

Biaya tenaga kerja merupakan salah satu biaya konvensional, disamping biaya overhead pabrik, yang merupakan salah satu biaya untuk mengubah bahan baku menjadi produk jadi (Mulyadi, 2015)

3. Biaya *Overhead* Pabrik

Biaya *overhead* pabrik merupakan biaya-biaya produksi selain biaya bahan baku dan biaya tenaga kerja langsung. Biaya-biaya produksi yang termasuk dalam biaya overhead pabrik dikelompokkan menjadi beberapa golongan sebagai berikut ini: biaya bahan penolong; biaya reparasi dan pemeliharaan; biaya tenaga kerja tidak langsung; biaya yang timbul sebagai akibat penilaian terhadap aktiva tetap; biaya yang timbul sebagai akibat berlalunya waktu

Biaya produksi erat kaitannya dengan harga pokok produksi, Biaya produksi dan harga pokok produksi adalah dua konsep yang sangat terkait dalam akuntansi biaya, di mana biaya produksi mengacu pada semua pengeluaran yang dikeluarkan dalam proses pembuatan suatu produk, meliputi biaya bahan baku,

biaya tenaga kerja langsung, dan biaya *overhead* pabrik. Setelah seluruh biaya produksi ini terkumpul, kemudian dihitung harga pokok produksi (HPP), yang merupakan total biaya yang melekat pada unit produk yang telah selesai dan siap dijual dalam suatu periode tertentu, seperti perbulan atau pertahun (Permana, 2020)

Harga pokok produksi (HPP) adalah hasil dari penelusuran dan pengalokasian seluruh biaya produksi ke unit-unit produk yang jadi, bukan hanya yang telah dikeluarkan, melainkan yang benar-benar membentuk nilai produk akhir yang siap dipasarkan, biaya produksi adalah biaya yang dibutuhkan untuk satu kali produksi, sedangkan harga pokok produksi adalah harga jual per produk, kedua ini pada akhirnya menjadi dasar penting dalam penentuan harga jual dan analisis profitabilitas perusahaan (Permana, 2020)

Harga pokok produksi mencerminkan total biaya barang yang diselesaikan selama periode berjalan. Sedangkan menurut (Mulyadi, 2015) harga pokok produksi merupakan jumlah dari biaya-biaya yang dikeluarkan pada saat pengadaan bahan baku sampai proses akhir produk yang siap untuk dijual. Penerapan harga pokok produksi merupakan untuk menentukan harga pokok per satuan produk yang akan dijual, sehingga ketika produk tersebut diserahkan, maka perusahaan dapat mengetahui laba atau kerugian yang akan diterima perusahaan setelah dikurang biaya-biaya lainnya (Hansen, Don, Mowen, & dkk, 2017)

III METODE PENELITIAN

Bab ini akan membahas mengenai: (3.1) Bahan dan Alat, (3.2) Metode Penelitian, dan (3.3) Prosedur Penelitian, (3.4) Jadwal Penelitian

3.1 Bahan dan Alat

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *starter* bakteri *Acetobacter xylinum*, Na-Alginat, kalsium klorida (CaCl_2) (merek Merck), buffer fosfat (pH 7) (merek Merck), air kelapa tua, asam cuka (dixi), ZA (*Zwavelzur amoniak*) *food grade*, gula pasir (merek gulaku), aquades, PCA (merek Merck) .

3.1.2 Alat penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah jarum suntik (*syringe*) 20 ml (1,6mm 14G), timbangan analitik, gelas beker, batang pengaduk, tabung reaksi, saringan, penggaris, *plastic cup* dan *chiller*. Peralatan yang digunakan pada pembuatan sel imobilisasi yaitu mikropipet, bunsen, *vortex*, gelas ukur, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *autoclaf*, inkubator, kapas cawan petri. Alat yang digunakan pada pembuatan *nata de coco* yaitu loyang plastik, pisau, pH meter, kompor, panci, pengaduk, saringan, koran, dan karet gelang.

3.2 Metode Penelitian

Penelitian yang akan dilakukan terdiri dari 4 tahap yaitu, penelitian tahap I, penelitian tahap II, pengukuran efektifitas dan pengukuran nilai ekonomis.

Penelitian tahap I yaitu, pembuatan sel imobil serta perhitungan jumlah bakteri yang ada di dalam sel imobil, penelitian tahap II yaitu pembuatan *nata de coco* menggunakan sel terimobilisasi serta pemisahan sel imobil dari lapisan nata.

Pengukuran efektifitas mengukur seberapa efektif penggunaan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi pada pembuatan *nata de coco*, dan pengukuran nilai ekonomis, apakah penggunaan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi pada pembuatan *nata de coco* menambah nilai ekonomis produk .

3.2.1 Pengukuran Efektivitas

Pengukuran efektivitas ini diukur berdasarkan ketebalan *nata de coco* pasca fermentasi menggunakan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi, selain itu juga berdasarkan % rendemen *nata de coco*.

Pada Penelitian ini pengukuran efektivitas dengan cara mengukur ketebalan *nata de coco* dan menghitung % rendemen *nata de coco*, yang dimaksudkan untuk mengetahui seberapa efektif penggunaan sel imobil terhadap pembuatan *nata de coco*.

Pengukuran ketebalan *nata de coco* caranya cukup sederhana karna hanya menggunakan jangka sorong, dengan mengukur segala sisi *nata de coco*, setelah itu hasil dijumlahkan dan di rata-ratakan, sementara itu pengukuran rendemen *nata de coco* dengan cara menimbang berat *nata de coco* lalu dibagi

dengan medium nya yaitu air kelapa lalu di kali 100% , kemudian diukur % rendemen dengan rumus berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Nata}}{\text{Berat Medium}} \times 100\%$$

Gambar III.1 Rumus Rendemen

Efektif atau tidaknya bisa dilihat dari ketebalan nata yang dihasilkan pasca fermentasi menggunakan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi stabil atau tidak dibandingkan dengan kontrol, dan apabila digunakan pada fermentasi selanjutnya hasil *nata de coco* tetap stabil maka bisa dipastikan penggunaan bakteri *Acetobacter xylinum* terimobilisasi efektif, dan bisa dipergunakan untuk fermentasi selanjutnya.

3.2.2 Pengukuran Nilai Ekonomis

Penelitian ini berfokus pada menaksir biaya yang diperlukan ketika penggunaan bakteri ter imobilisasi pada proses produksi, sehingga nantinya bisa diketahui apakah layak atau tidak untuk dijalankan, berikut langkah-langkah yang diperlukan:

1. Penentuan Biaya Produksi

Biaya produksi terbagi menjadi dua, yaitu

a. Biaya Tetap

Biaya tetap merupakan biaya yang terjadi karena adanya sesuatu yang dibiayai. Jika sesuatu yang dibiayai tersebut tidak ada, maka biaya tetap tidak akan terjadi. Terdiri dari biaya bahan baku dan biaya tenaga kerja langsung. (Hansen dan Mowen, 2007)

b. Biaya Tidak Tetap

Biaya tidak tetap merupakan biaya yang terjadinya tidak hanya disebabkan oleh sesuatu yang dibiayai, namun hubungannya dengan produk. (Hansen dan Mowen, 2007)

2. Penentuan Harga Jual Produk

Harga merupakan sejumlah uang yang dibutuhkan untuk mendapatkan sejumlah barang beserta jasa-jasa tertentu atau kombinasi keduanya. (Buchari, 2000). Tahap perhitungan harga produksi bisa dilihat pada gambar berikut:

$$\text{Harga Pokok/Bungkus} = \text{Total Biaya Produksi} / \text{Jumlah Produk yang dipasarkan}$$

Gambar III.2 Rumus Harga Pokok/Bungkus

$$\text{Hasil Penjualan Produksi/Bulan} = \text{Jumlah Produk Yang Dipasarkan} \times \text{Harga Produk}$$

Gambar III.3 Rumus Hasil Penjualan Produksi/Bulan

3.2.3 Rancangan Respon

Kriteria Pengamatan yang dilakukan yaitu respon fisik

1. Respon Fisik

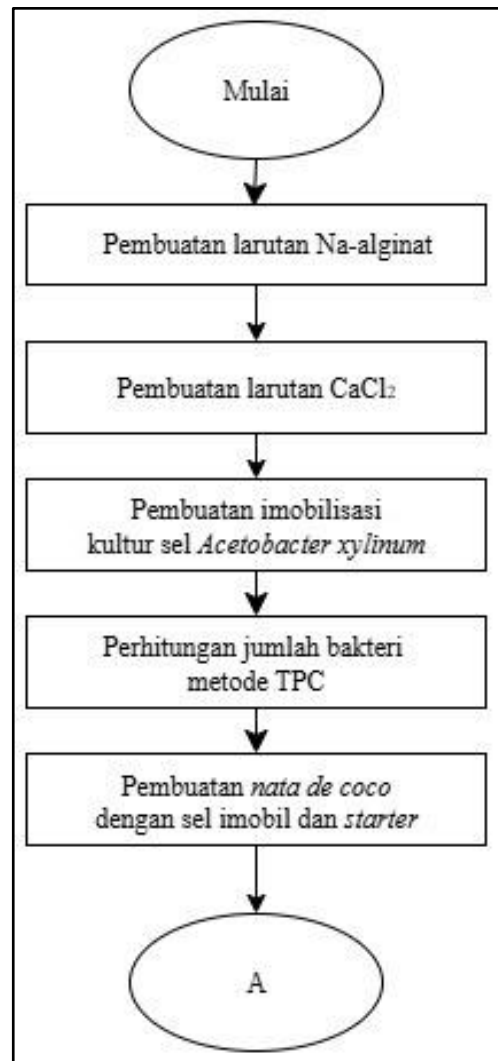
Respon fisik yang diukur yaitu ketebalan nata (Novita, dkk, 2016) dan rendemen nata (AOAC, 2016)

2. Respon Kimia

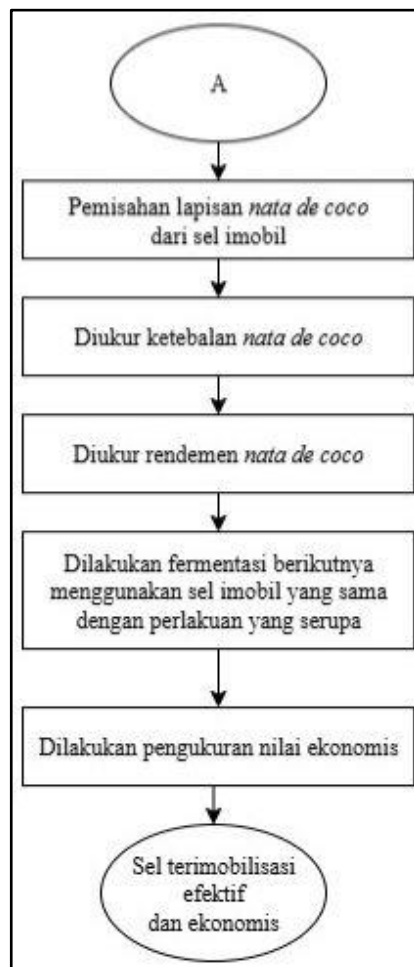
Respon kimia yang dilakukan yaitu pengukuran pH (Chen, L., & Li, Q. 2021), pengukuran TSS (Wahyudi dan Dewi, 2017)

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Prosedur Penelitian Umum



Gambar 8. Prosedur Penelitian Umum



Gambar III.4 Prosedur Penelitian Umum Lanjutan

3.3.2 Penelitian Tahap I

3.3.2.1 Pembuatan Sel Imobil

a. Pembuatan Larutan *Na-Alginat*

1. Penimbangan

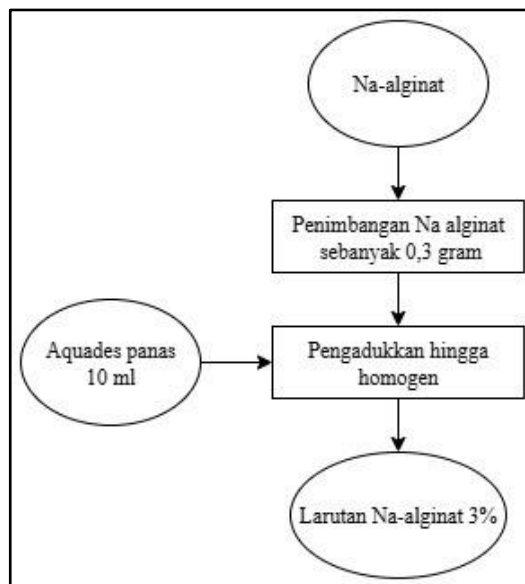
Langkah awal pada pembuatannya yaitu penimbangan *Na-Alginat* ditimbang sebanyak 0,3 gram.

2. Homogenisasi

Proses homogenisasi dilakukan untuk mencampurkan *Na-Alginat* dengan aquades panas. Aquades panas dimasukkan sebanyak 10 ml

ke dalam gelas beker berisi Na-Alginat, lalu diaduk hingga homogen.

Proses pembuatan larutan Na-Alginat dapat dilihat pada gambar 13.



Gambar III.5 Pembuatan Larutan Na-Alginat

b. Pembuatan Larutan Kalsium Klorida (CaCl_2)

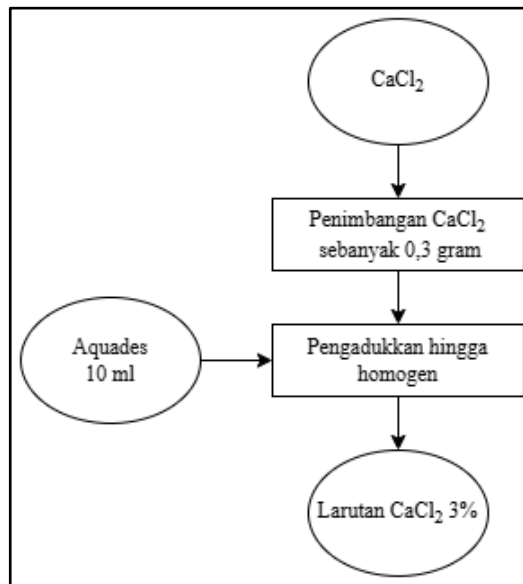
1. Penimbangan

Langkah awal pada pembuatannya yaitu penimbangan kalsium klorida sebanyak 0,3 gram.

2. Homogenisasi

Proses homogenisasi dilakukan untuk mencampurkan kalsium klorida dengan aquades. Aquades dimasukkan sebanyak 10 ml ke dalam gelas beker berisi kalsium klorida, lalu diaduk hingga homogen.

Proses pembuatan larutan kalsium klorida dapat dilihat pada Gambar 14.



Gambar III.6 Pembuatan Larutan CaCl_2

c. Proses Pembuatan Imobilisasi Kultur Sel *Acetobacter xylinum*

1. Homogenisasi

Proses homogenisasi dilakukan untuk mencampurkan kultur sel *Acetobacter xylinum* dengan larutan Na-alginat 3%. Kultur sel *Acetobacter xylinum* sebanyak 5 ml dicampurkan dengan larutan Na-alginat 3% , lalu diaduk hingga homogen.

2. Penetesan

Proses penetesan dilakukan untuk membentuk sel imobil menjadi *beads* (bulatan sel). Campuran kultur sel *Acetobacter xylinum* dengan Na-alginat ditetaskan ke dalam larutan CaCl_2 3%.

3. Pendiaman

Proses pendiaman dilakukan untuk mempertahankan bentuk *beads* (bulatan sel) agar tidak hancur. *beads* (bulatan sel imobil) didiamkan selama 30 menit

4. Penyaringan

Proses penyaringan dilakukan untuk memisahkan *beads* (bulatan sel) dengan larutan CaCl_2 .

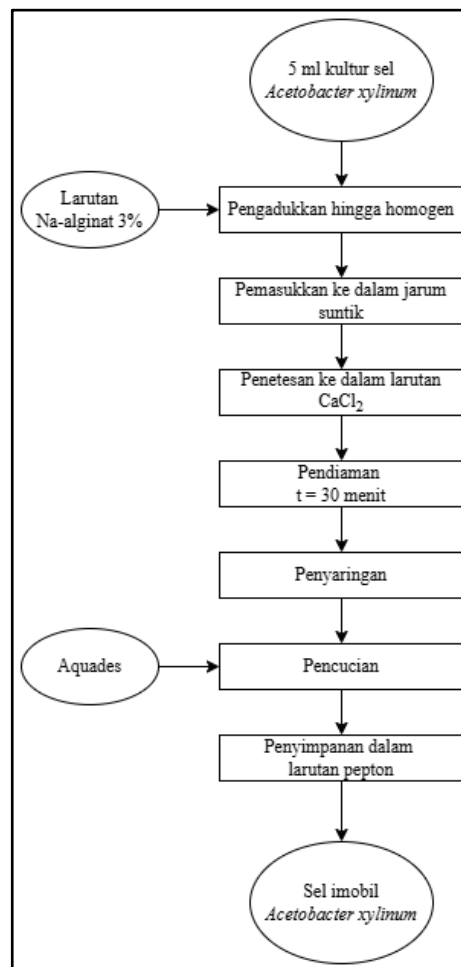
5. Pencucian

Proses pencucian dilakukan untuk membersihkan *beads* (bulatan sel) dengan sisa larutan CaCl_2 . Pencucian *beads* (bulatan sel) dilakukan menggunakan aquades

6. Penyimpanan dalam larutan pepton

Prosesn penyimpanan dalam larutan pepton untuk menjaga kualitas *beads* (bulatan sel) sebelum digunakan disimpan pada *chiller* suhu 8-10°C.

Proses imobilisasi kultur sel *Acetobacter xylinum* dapat dilihat pada gambar 15



Gambar III.7 Pembuatan Sel Imobil

3.3.2.2 Enumerasi Bakteri Setelah Imobilisasi Metode TPC

1. Homogenisasi

Proses homogenisasi dengan vortex selama 30 menit dilakukan untuk mencampurkan larutan buffer fosfat (pH 7) dengan 1 gram sel imobil, agar saling larut.

2. Pendiaman

Proses pendiaman selama 15 menit pada suhu ruang (20-25°C) dilakukan untuk membiarkan *beads* larut dengan sempurna.

3. Homogenisasi

Proses homogenisasi dengan vortex selama 30 detik dilakukan untuk mencampurkan suspensi bakteri dengan aquades steril.

4. Pengenceran

Proses pengenceran hingga seri ke 7 menggunakan mikropipet dilakukan untuk mendapatkan koloni 30-300 pada cawan petri.

5. Inkubasi

Proses inkubasi dilakukan untuk membiarkan bakteri hidup pada media PCA

Proses enumerasi bakteri dapat dilihat pada gambar 16.



Gambar III.8 Enumerasi Bakteri Setelah Imobilisasi Metode TPC

3.3.3 Penelitian Tahap II

3.3.3.1 Pembuatan *Nata de coco* Dengan Bantuan Sel Imobil

1. Penyaringan

Proses penyaringan dilakukan untuk memisahkan air kelapa muda dengan kotoran.

2. Pemanasan

Proses pemanasan dilakukan untuk mematangkan air kelapa muda. dengan suhu 100°C selama 10 menit. Kemudian ditambahkan gula pasir 45 gram, asam asetat 15 ml dan *ZA food grade* 15 gram.

3. *Tempering*

Proses *tempering* dilakukan untuk menghindari kondisi panas yang akan merusak *beads* (bulatan sel). *Tempering* dilakukan di suhu ruang (30°C) selama 2 jam.

4. Penambahan *Beads* dan *Starter*

Proses penambahan *beads* dan *starter* dilakukan sebagai matriks dan sumber C. *beads* ditambahkan sebanyak 5 gram dan 15 ml *starter Acetobacter xylinum*,

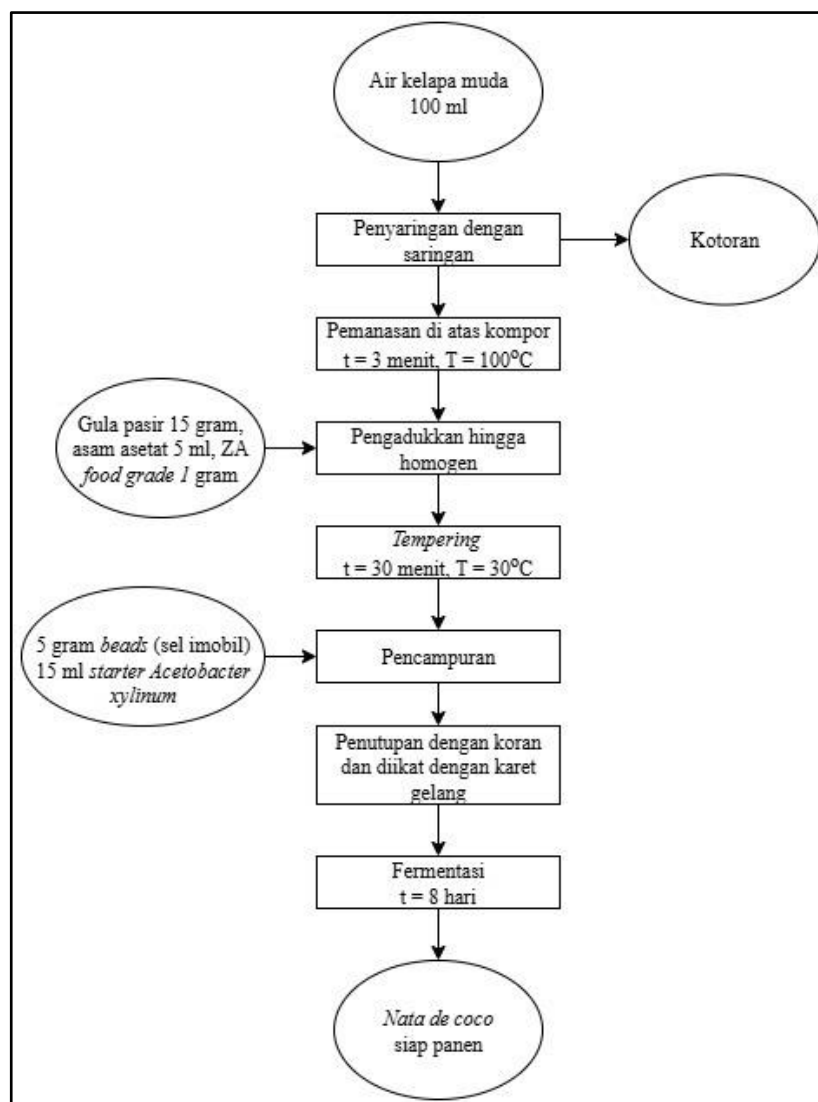
5. Penutupan dengan Kertas

Proses penutupan dengan Kertas dilakukan untuk menghindari kontaminasi dari lingkungan luar lalu nampan ditutup kembali menggunakan kertas. Selanjutnya kertas diikat menggunakan karet gelang, agar tidak terkontaminasi lingkungan dari luar.

6. Inkubasi

Proses inkubasi dilakukan untuk membiarkan bakteri Setelah itu diinkubasi selama 8 hari, dengan menjaga agar tidak terkena guncangan. Selanjutnya nata siap untuk di panen.

Proses pembuatan nata de coco dapat dilihat pada Gambar 17.



Gambar III.9 Pembuatan *Nata de Coco*

3.3.3.2 Pemisahan Lapisan *Nata* dari Sel Imobil

1. Penyaringan

Proses penyaringan dilakukan untuk memisahkan sel imobil dari *nata de coco*. Setelah 8 hari fermentasi nata dilakukan, akan terbentuk lapisan putih yang siap diambil dari wadah. Lapisan yang terbentuk dipisahkan dari sel imobil dan bagian lain yang rusak, kemudian disaring.

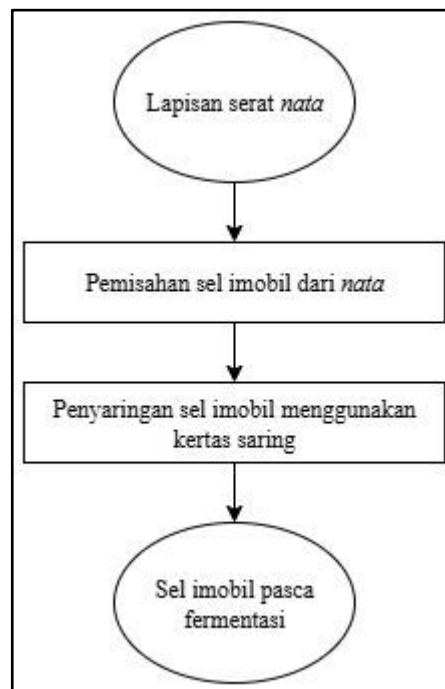
2. Pencucian

Proses pencucian dilakukan untuk membersihkan sel imobil dari sisa *nata de coco* yang masih menempel. Sel imobil dicuci dengan aquades yang mengalir.

3. Pengamatan

Proses pengamatan dilakukan untuk melihat perubahan sel imobil *pasca* fermentasi. Secara organoleptic diamati perubahan yang terjadi pada sel imobil seperti warna, bentuk, dan tekstur.

Proses pemisahan nata dari sel imobil dapat dilihat pada gambar 18



Gambar III.10 Pemisahan Lapisan Serat Nata

3.3.4 Prosedur Pengukuran Efektivitas

3.3.4.1 Pengukuran Ketebalan *Nata de coco*

1. Penirisan

Proses penirisan dilakukan untuk memisahkan *nata de coco* dengan sisa air fermentasi. *Nata de coco* ditiriskan selama 10 menit

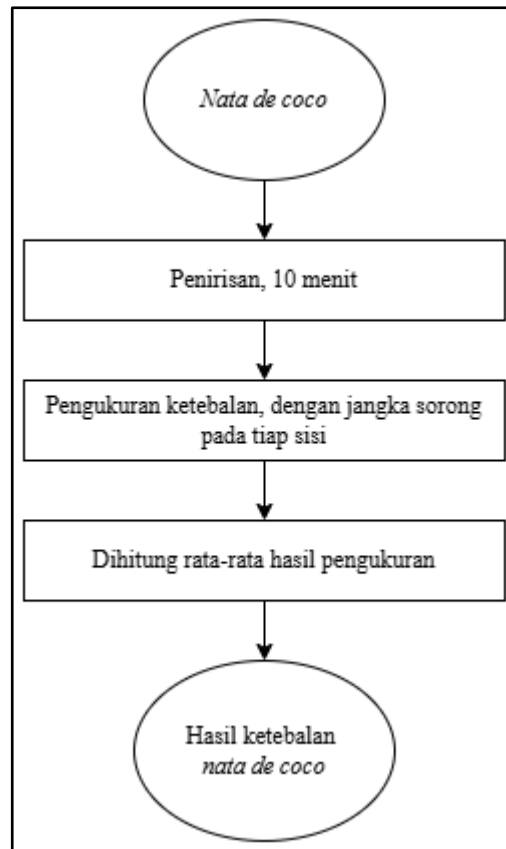
2. Pengukuran

Proses pengukuran dilakukan untuk mengukur ketebalan *nata de coco*. Pengukuran *nata de coco* dilakukan di tiap sisi menggunakan jangka sorong.

3. Perhitungan

Proses perhitungan dilakukan untuk menghitung rata-rata hasil pengukuran *nata de coco*.

Proses pengukuran ketebalan nata dapat dilihat dari gambar 19.



Gambar III.11 Pengukuran Ketebalan *nata de coco*

3.3.4.2 Prosedur Pengukuran Rendemen

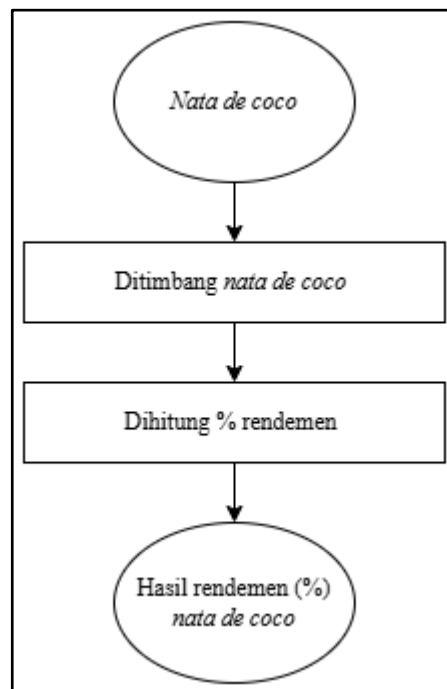
1. Penimbangan

Langkah awal pengukuran rendemen yaitu ditimbang berat *nata de coco* pasca fermentasi.

2. Perhitungan

Proses perhitungan dilakukan untuk menghasilkan rendemen (%) *nata de coco*.

Proses pengukuran rendemen bisa dilihat pada gambar 20



Gambar III.12 Prosedur Pengukuran Hasil Rendemen

3.3.5 Prosedur Pengukuran Nilai Ekonomis

Pengukuran nilai ekonomis dilakukan dengan beberapa tahapan sesuai dengan rumus di halaman 35.

3.4 Jadwal Penelitian

Jadwal penelitian akan dilakukan pada bulan April 2025 sampai dengan Juni 2025. Jadwal penelitian dapat dilihat pada lampiran 13.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini menguraikan mengenai: (1) Hasil Penelitian Tahap I (2) Hasil Penelitian Tahap II, (3) Hasil Pengukuran Efektifitas, (4) Hasil Pengukuran Nilai Ekonomis

4.1 Hasil Penelitian Tahap I

4.1.1 Pembuatan Sel Imobil

Pada tahap ini sebelum pembuatan sel imobil, terlebih dahulu membuat larutan Na-alginat 3% dan CaCl_2 3%, pada pembuatan larutan Na-alginat harus menggunakan aquades panas karena karena sukar larut. Alginat, khususnya dalam bentuk garam natrium alginat (sodium alginat), sebenarnya dapat larut dalam aquades dingin, tetapi prosesnya seringkali lambat dan cenderung membentuk gumpalan. Ini terjadi karena sifat polimerik dari alginat itu sendiri. Alginat adalah polisakarida linier yang terdiri dari unit-unit manuronat (M) dan guluronat (G). Ketika natrium alginat ditambahkan ke air dingin, rantai-rantai polimer ini cenderung saling menempel dan menggumpal karena adanya interaksi hidrofobik dan ikatan hidrogen, serta karena viskositas larutan yang tinggi. Gumpalan ini memerangkap air di dalamnya dan mencegah pelarutan sempurna, sehingga banyak bagian polimer tetap tidak terlarut atau hanya terdispersi tidak merata (Souza, 2024)

Penggunaan aquades panas pada saat proses pembuatan Na-alginat 3% karena Suhu yang lebih tinggi meningkatkan energi kinetik molekul air, membuatnya bergerak lebih cepat. Gerakan yang lebih cepat ini membantu memecah ikatan hidrogen antarmolekul air dan juga antarmolekul alginat,

sehingga memudahkan molekul air untuk berinteraksi dengan dan melarutkan rantai polimer alginat, Panas secara signifikan mengurangi viskositas larutan alginat yang sedang terbentuk. Viskositas yang lebih rendah memungkinkan molekul alginat untuk menyebar lebih merata di dalam aquades dan mencegah pembentukan gumpalan. Aquades panas juga lebih mudah menembus gumpalan yang mungkin sudah terbentuk, membantu memisahkannya, Peningkatan suhu mempercepat proses hidrasi, yaitu penyerapan air oleh molekul alginat. Rantai-rantai polimer alginat akan lebih cepat mengembang dan terdispersi sempurna dalam pelarut air saat suhu tinggi. (Souza, 2024)

Hasil pada tahap ini yaitu sel imobil/*beads* seperti pada gambar 25, terbentuknya *beads* adalah karena Na-alginat memiliki sifat mampu membentuk *gel* dengan cara berikatan dengan kalsium klorida (CaCl_2), yang berperan sebagai kation. Ion Ca^{+2} pada kalsium klorida berfungsi menguatkan struktur *gel* pada alginat, *beads* berbentuk bulat karena peneteskan menggunakan *syringe*, *syringe* yang digunakan pada penelitian ini memiliki ukuran lingkaran sebesar 4 mm (Mubarokah, 2018)

Beads dengan ukuran kecil lebih baik digunakan, karena Memiliki luas permukaan yang lebih besar dibandingkan volume. Ini memungkinkan transfer massa nutrisi dan oksigen yang lebih efisien dari media ke bakteri, yang dapat mendukung pertumbuhan bakteri. (Mubarokah, 2018)

Natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) dapat membentuk *gel* dengan baik melalui proses yang disebut gelasi ionik. Proses ini terjadi ketika ion kalsium (Ca^{2+}) berfungsi sebagai penghubung antara rantai polimer alginat.

Alginat adalah sejenis polisakarida yang memiliki rantai lurus dan mengandung blok asam guluronat (G) yang memiliki gugus karboksil. Saat larutan natrium alginat dicampur dengan larutan kalsium klorida, ion Ca^{2+} mudah berikatan dengan gugus karboksil pada blok G di dua rantai alginat yang berbeda. Ikatan ini membentuk jaringan polimer tiga dimensi yang stabil, sehingga menghasilkan gel yang padat dan elastis. Proses ini terjadi cepat di suhu kamar dan tidak memerlukan pemanasan, menjadikannya metode yang efisien (Liu, Z. , & Jiao, Y. 2018).

Beads yang sudah terbentuk dimasukkan ke dalam larutan pepton 1%.. Pepton digunakan karena merupakan sumber nitrogen atau nutrisi yang diperlukan untuk tumbuh bakteri. Harapan dengan menggunakan pepton adalah bakteri yang terimobilisasi tetap bisa hidup ketika digunakan kembali karena mendapat nutrisi (Liu, Z. , & Jiao, Y. 2018).

Pepton berfungsi sebagai sumber nutrisi penting bagi bakteri. Pepton adalah campuran dari polipeptida, peptida pendek, dan asam amino bebas yang berasal dari pembongkaran sebagian protein hewani atau tumbuhan. Komponen-komponen ini memberi bakteri nitrogen organik, karbon, sulfur, serta vitamin dan mineral yang dibutuhkan untuk membentuk protein, asam nukleat, dan bagian sel lainnya. Karena pepton sudah terpecah sebagian, bakteri dapat menyerap dan menggunakan nutrisi dengan lebih cepat dibandingkan bila menggunakan protein utuh, sehingga tumbuh lebih cepat dan optimal di dalam media kultur. *Beads* disimpan dalam *chiller* untuk *Beads* yang mengandung mikroba, disimpan dalam larutan pepton di dalam *chiller* (pendingin) dengan

tujuan utama mempertahankan viabilitas (keberlangsungan hidup) sel mikroba dalam jangka panjang. (Riswiyanto, 2009).

Konsentrasi pepton 1% dipilih karena efisien secara ekonomi dan menyediakan nutrisi yang cukup tanpa membuang-buang bahan. Konsentrasi ini sudah terbukti efektif dalam banyak media kultur mikrobiologi standar, yang memungkinkan pertumbuhan bakteri cepat dan baik. Penggunaan konsentrasi yang tepat menjamin bakteri memiliki akses terus-menerus pada proses metabolisme sel, sehingga mendukung hasil fermentasi yang konsisten dan bisa digunakan kembali (Riswiyanto, 2009).



Gambar IV. 1 *Beads Acetobacter xylinum*

Pada pembuatan sel imobil ini menggunakan larutan Na-alginat 3% dan larutan CaCl_2 3%, konsentrasi ini merujuk pada penelitian (Nafiatul, 2023), bahwa aplikasi sel imobil dengan konsentrasi Na-alginat 3% menghasilkan *nata de coco* dengan karakteristik lapisan serat cukup tebal dan stabil (mendekati kontrol), sedangkan menurut (Lathifa dkk., 2024), Na-Alginat dengan konsentrasi 3% merupakan konsentrasi terbaik untuk pembuatan sel imobil, sehingga menghasilkan sel imobil yang mempunyai tekstur elastis, tidak terlalu besar ataupun terlalu kecil (4 mm) yang ketika diaplikasikan pada pembuatan

nata de coco, fermentasi yang dilakukan berjalan dengan baik yang menghasilkan *nata de coco* dengan karakteristik lapisan serat cukup tebal dan stabil.

Konsentrasi natrium alginat dan kalsium klorida (CaCl_2) adalah dua hal penting yang sangat memengaruhi sifat fisik dan stabilitas dari *beads* yang terbentuk. Jika konsentrasi alginat meningkat, maka *beads* yang dihasilkan cenderung lebih padat, kuat, dan stabil karena alginat menyediakan lebih banyak rantai untuk terikat dengan ion kalsium. Hal ini juga membuat pori dalam *beads* lebih kecil, sehingga lebih membatasi keluarnya sel atau molekul dari dalam *beads* dan memberikan perlindungan yang lebih baik terhadap tekanan atau kerusakan. Namun, jika konsentrasi alginat terlalu tinggi, maka kekentalan larutan bisa menjadi terlalu besar, menyulitkan proses pembentukan *beads*, serta bisa menghambat masuknya substrat atau hasil ke dalam dan keluar *beads*, sehingga mengurangi efisiensi proses fermentasi. (Qazim, 2019)

Konsentrasi kalsium klorida yang tepat juga sangat penting untuk proses gelasi yang baik. Ion Ca^{2+} berperan sebagai jembatan yang mengikat berbagai rantai alginat. Semakin tinggi konsentrasi CaCl_2 , maka semakin banyak ion Ca^{2+} yang bisa terikat pada gugus karboksil dari alginat, sehingga menyebabkan ikatan silang yang lebih kuat, *beads* yang lebih kaku, padat, dan tahan terhadap pembengkakan atau kerusakan di lingkungan air. Namun, jika konsentrasi CaCl_2 terlalu tinggi, maka proses gelasi bisa terjadi terlalu cepat atau menyebabkan endapan kalsium alginat yang tidak merata, sehingga membuat *beads* menjadi rapuh dan mudah hancur, atau bahkan merusak

kesehatan sel yang diimobilisasi karena kondisi air yang ekstrem. Oleh karena itu, menentukan konsentrasi yang tepat untuk kedua bahan ini sangat penting agar bisa menghasilkan *beads* yang memiliki sifat fisik dan fungsional sesuai harapan. (Qazim, 2019).

4.1.2 Enumerasi Bakteri Setelah Imobilisasi Metode TPC

Bakteri yang digunakan untuk membuat *nata de coco* terlebih dahulu dihitung jumlahnya per bead. Penentuan jumlah bakteri dilakukan dengan cara enumerasi, yaitu proses menghitung jumlah sel bakteri yang hidup atau total dalam sampel. Metode enumerasi sangat penting dalam bidang mikrobiologi karena digunakan untuk menilai kualitas mikrobiologis, memantau pertumbuhan kultur bakteri, atau mengukur efektivitas bahan antimikroba. Beberapa metode yang sering digunakan termasuk hitungan cawan, di mana sampel dilarutkan dan dibiarkan tumbuh di media agar untuk menghitung koloni yang terbentuk; metode *most probable number* (MPN), yang memperkirakan jumlah bakteri berdasarkan hasil positif pada beberapa tabung pengenceran; serta metode langsung seperti *direct microscopic count* (DMC) menggunakan alat hemositometer, atau teknik modern seperti *flow cytometry* dan *quantitative polymerase chain reaction* (PCR) untuk menghitung jumlah sel atau genom bakteri (Madigan, dkk, 2018).

Dalam penelitian ini, jumlah bakteri *Acetobacter xylinum* dihitung dengan metode *Total Plate Count* (TPC), karena metode ini lebih mudah dilakukan. TPC adalah cara menghitung jumlah mikroba yang tumbuh pada media agar dengan kondisi suhu dan waktu inkubasi yang ditentukan. Prinsip

TPC adalah menghitung koloni bakteri yang tumbuh di media agar untuk mengetahui jumlah bakteri dalam sampel. Metode hitungan cawan sudah lama digunakan dalam bidang mikrobiologi pangan untuk memperkirakan jumlah mikroorganisme dalam suatu sampel. (Madigan, dkk, 2018)

Total Plate Count (TPC) atau disebut juga Angka Lempeng Total (ALT) atau *Total Viable Count* (TVC) adalah metode yang digunakan dalam bidang mikrobiologi untuk menghitung jumlah mikroorganisme hidup, terutama bakteri aerob mesofilik, dalam suatu sampel. Metode ini menjadi dasar untuk mengukur jumlah mikroba yang masih hidup dan bisa berkembang. Prinsip utamanya adalah setiap sel bakteri hidup dalam sampel, ketika dibiarkan tumbuh di media agar yang sesuai dengan kondisi lingkungan optimal, akan membentuk koloni yang bisa dilihat secara kasar. Prosesnya melibatkan pengenceran bertahap sampel agar mendapatkan konsentrasi yang memungkinkan penghitungan koloni secara individu, biasanya antara 30 hingga 300 koloni per cawan. Selanjutnya sampel dibiarkan tumbuh di media padat dengan metode *pour plate* atau *spread plate*. Setelah diinkubasi, jumlah koloni dihitung dan hasilnya dinyatakan sebagai *Colony Forming Units* (CFU) per mililiter atau per gram sampel (Wijaya, 2015).

TPC adalah metode yang relatif sederhana dan mudah dipakai, namun ada beberapa kelemahannya. Metode ini memakan waktu karena membutuhkan periode inkubasi yang cukup lama (biasanya 24-48 jam atau lebih), tidak bisa membedakan bakteri yang berbahaya dan yang tidak berbahaya, serta hanya menghitung mikroba yang bisa tumbuh dalam kondisi inkubasi tertentu (suhu,

pH, aerasi, dan komposisi media) yang digunakan, sehingga tidak mencerminkan seluruh populasi mikroba. Meskipun demikian, metode ini tetap sangat penting dan digunakan secara luas dalam berbagai standar industri dan regulasi untuk pengendalian kualitas mikrobiologis (Wijaya, 2015).

Total Plate Count (TPC) untuk *Acetobacter xylinum* adalah teknik pengukuran kuantitatif dalam bidang mikrobiologi yang digunakan untuk mengetahui jumlah sel *Acetobacter xylinum* yang hidup dan mampu membentuk koloni dalam suatu sampel. Pada penelitian ini dilakukan pengenceran hingga 7 kali dan sampel tersebut ditanam pada media PCA (*plate count agar*). Namun hasilnya dari pengenceran pertama hingga ketiga menunjukkan TBUD (terlalu banyak untuk dihitung) seperti yang terlihat pada tabel 3. Metode ini sangat penting dalam penelitian atau produksi nata, karena *Acetobacter xylinum* adalah bakteri utama yang bertugas dalam pembentukan selulosa atau nata.

Pada metode *Total Plate Count* (TPC), hasil seringkali dilaporkan sebagai Terlalu Banyak Untuk Dihitung (TBUD) atau Terlalu Sedikit Untuk Dihitung (TSUD), bukan sebagai nilai numerik spesifik, karena jumlah koloni yang tumbuh pada cawan tidak berada dalam rentang yang dapat dihitung secara akurat. TBUD terjadi ketika terdapat lebih dari batas atas koloni yang dapat dihitung secara akisi (umumnya lebih dari 300 koloni per cawan), menyebabkan koloni-koloni tersebut saling tumpang tindih dan sulit dibedakan, sehingga penghitungan yang tepat menjadi tidak mungkin dan hasil tidak representatif. Sebaliknya, TSUD muncul ketika jumlah koloni kurang dari batas bawah yang disarankan yaitu umumnya berkisar kurang dari 30 koloni per cawan, hasil

perhitungan rentan terhadap kesalahan dan tidak mencerminkan populasi bakteri secara akurat, karena setiap koloni yang terlewat atau kesalahan kecil dalam pengenceran akan memiliki dampak signifikan pada hasil akhir. Oleh karena itu, jika TPC menghasilkan TBUD atau TSUD, pengulangan pengujian dengan pengenceran sampel yang lebih tepat diperlukan untuk memperoleh hasil yang valid (Harrigan & McCance, 1976)

Tabel IV. 1 Analisis TPC Sel terimobilisasi

	Pengenceran					Jumlah Koloni (CFU/ml)
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	
Sel imobil sebelum fermentasi	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	137	$1,4 \times 10^7$
Sel imobil setelah fermentasi	TBUD	TBUD	TBUD	TBUD	48	$4,8 \times 10^6$

Setiap sel mikroorganisme yang hidup dan mampu berkembang biak (*viable*) akan membentuk satu koloni yang terlihat pada media agar yang sesuai, setelah diinkubasi pada kondisi yang optimal. Koloni-koloni yang terbentuk ini kemudian dihitung.

Analisis TPC ini bertujuan untuk mengetahui berapa banyak mikroba dalam *beads*/sel imobil sebelum fermentasi dan setelah fermentasi, berdasarkan tabel 3, setelah dilakukan analisis TPC jumlah bakteri yang ada di dalam *beads* adalah sebanyak $1,4 \times 10^7$, dan setelah dilakukan fermentasi kemudian dilakukan kembali analisis TPC, jumlah bakteri di dalam *beads* berkurang menjadi $4,8 \times 10^6$, hal ini artinya ketika proses fermentasi berlangsung bakteri yang ada di dalam sel imobil kemungkinan mati. Seiring berjalannya waktu dan siklus fermentasi berulang, beberapa sel di dalam matriks akan mati. Penumpukan sel mati dapat menghambat sel hidup yang tersisa dan mengurangi jumlah total sel aktif yang berkontribusi pada produksi.

Banyak bakteri yang tertangkap dalam matriks imobilisasi sering kali berkurang ketika dihitung lagi setelah proses fermentasi selesai. Hal ini terjadi karena mereka mengalami berbagai jenis stres, baik secara metabolisme maupun fisik, selama digunakan berulang kali. Sel yang terperangkap dalam matriks tersebut terpapar lingkungan fermentasi yang cukup ekstrem, seperti perubahan tingkat pH, penumpukan zat sisa yang beracun, dan kurangnya suplai nutrisi. Hal-hal ini secara keseluruhan dapat menyebabkan sel menjadi tidak aktif atau mati. Selain itu, matriks imobilisasi itu sendiri, seperti alginat, bisa mengalami kerusakan struktur karena kondisi lingkungan yang asam atau adanya gaya geser akibat pengadukan. Hal ini menyebabkan sel terlepas dari matriks atau bahkan pecah. Fenomena penurunan jumlah sel yang masih aktif pada penggunaan berulang pernah diteliti oleh (Tohamy, dkk, 2020).

4.2 Hasil Penelitian Tahap II

4.2.1 Pembuatan *Nata de coco*

Sebelum pembuatan nata de coco terlebih dahulu dilakukan pengukuran *Total Soluble Solid* (TSS) dan pH bahan baku yang akan digunakan yaitu air kelapa, pengukuran *Total Soluble Solid* (TSS) menggunakan *hand refractrometer* dilakukan untuk mengetahui %brix atau gula pada bahan baku air kelapa hal ini menyesuaikan PT Pattaya yang memiliki standar %brix tersendiri, sedangkan pengukuran pH menggunakan pH universal dilakukan untuk mengetahui pH yang sesuai pada bahan baku air kelapa hal ini juga menyesuaikan PT Pattaya yang memiliki standar tersendiri.

Setelah pengukuran pada bahan baku selesai, dilanjutkan dengan pembuatan *Nata de coco* yang di fermentasi selama 8 hari, fermentasi 8 hari ini pun sesuai dengan kondisi proses produksi di PT Pattaya.

1. *Total Soluble Solid* (TSS)

Menurut Susanto (1986) yang dikutip oleh Krisnayanita (2002), sebagian besar dari total padatan yang larut dalam bahan pangan adalah gula. Tingkat manisnya bahan baku dipengaruhi oleh tingkat kematangan, jenis varietas, dan jumlah karbohidrat yang terdapat di dalamnya. Pada buah, semakin tua hingga masak, tingkat manisnya cenderung semakin meningkat. Hal ini terjadi karena proses respirasi yang mengubah pati menjadi gula.

Karbohidrat dibagi menjadi tiga kelompok, yaitu monosakarida, polisakarida, dan oligosakarida. Monosakarida adalah gula sederhana yang

tidak bisa diuraikan lagi menjadi bagian yang lebih kecil. Kata "mono" berarti satu bagian dasar. Polisakarida tidak memiliki sifat khas gula karena biasanya tidak berbentuk, sering tidak larut dalam air, dan rasanya tidak manis. Polisakarida ini dibentuk dari penggabungan ratusan hingga ribuan unit monosakarida. Kata "poli" berarti banyak. Oligosakarida adalah gula yang terdiri dari dua hingga enam unit monosakarida yang bergabung menjadi satu. Kata "oligo" berarti beberapa bagian. Gula, baik monosakarida maupun oligosakarida, adalah bahan berupa kristal, tidak berwarna, mudah larut dalam air, dan rasanya manis. Contoh dari oligosakarida adalah sukrosa.

Sukrosa yang terlarut dalam cairan atau air dapat diukur dengan alat refraktometer, dengan satuan derajat brix. Derajat brix ($^{\circ}\text{Brix}$) adalah pengukuran berapa persen berat sukrosa yang terlarut dalam cairan (Aglabs, 2005 dan Hort, 2007). Untuk air kelapa tua, derajat brix sukrosa berkisar antara 4 hingga 5, hal ini sesuai dengan standar bahan baku air kelapa di PT Pattaya (CDB, 2000).

Data hasil analisis *Total Soluble Solid* (TSS) pada air kelapa dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel IV. 2 Hasil Analisis TSS air kelapa

Produk	Uji Pendahuluan	Produksi		
		I	II	III
Air Kelapa	%Brix	4.8	4.6	4.8

Keterangan:

- I: Bahan baku air kelapa untuk pembuatan nata tanpa bantuan sel imobil
- II: Bahan baku air kelapa untuk pembuatan nata dengan bantuan sel imobil untuk fermentasi ulangan pertama
- III: Bahan baku air kelapa untuk pembuatan nata dengan bantuan sel imobil untuk fermentasi ulangan kedua

Penentuan %brix gula pada air kelapa yaitu dengan menggunakan refraktometer terhitung sebagai kadar TSS. Adapun hasil pengukuran kadar TSS pada air kelapa pada fermentasi ke-1 sebesar 4,80% dan pada fermentasi ke-2 sebesar 4,60%. Menurut SNI (1996) jumlah gula pada *Nata de coco* yaitu minimal 15% maka kadar gula yang perlu ditambahkan sebesar 11% untuk bahan baku air kelapa.

Standar %Brix pada PT Pattaya pada bahan baku air kelapa yaitu 5%, pembuatan *Nata de coco* memerlukan medium yang memiliki nutrisi yang cukup, %Brix di bawah 5% mengindikasikan bahwa air kelapa belum matang sempurna, yang artinya kandungan karbohidrat atau gula yang masih sedikit sehingga perlunya penambahan gula hingga mencapai %Brix 5%

Selulosa dibentuk di luar sel dalam bentuk jaringan yang menyerupai kain, dan semakin tebal jaringan tersebut semakin banyak selulosa yang terbentuk. Jika konsentrasi gula yang ditambahkan semakin tinggi, maka nata yang dihasilkan juga semakin tebal. Penambahan gula akan meningkatkan tekanan osmotik dalam medium, sehingga sel bakteri akan mengeluarkan air. Menurut Tjandra (2001) dalam Pratiwi (2009),

tekanan osmotik sangat tergantung pada jumlah gula dalam media. Jika kandungan gula dalam medium tinggi, maka tekanan osmotiknya juga akan meningkat. Tekanan osmotik yang terlalu tinggi dapat menyebabkan sel bakteri *Acetobacter xylinum* mengalami plasmolisis, sehingga aktivitas bakteri menurun dan pembentukan nata tidak optimal. Selain itu, jika kandungan gula terlalu tinggi, gula tersebut akan banyak diubah menjadi asam dan karbon dioksida, sehingga pH medium turun secara drastis, yang berdampak negatif pada aktivitas *Acetobacter xylinum*.

2. pH

Pengukuran pH merupakan salah satu factor yang memengaruhi pertumbuhan serta pembentukan produk. Kebanyakan organisme dapat berfungsi dengan baik dalam rentang pH antara 3 hingga 4. Kondisi pH cenderung berubah karena berbagai penyebab. (Judoamidjojo, 1991).

Setiap mikroorganisme mempunyai rentang nilai pH sekitar 6,0 hingga 8,0 yang masih memungkinkan pertumbuhannya, dan masing-masing biasanya memiliki pH terbaik untuk pertumbuhan (Nurwantoro, 1996).

pH terbaik untuk pembentukan nata adalah antara 4,0 hingga 4,5 (Alaban, 1962). Menurut Krystynowicz dkk (2005), pH terbaik untuk pertumbuhan *Acetobacter xylinum* berkisar antara 5,4 hingga 6,2. Penambahan asam asetat glasial dalam medium fermentasi biasanya dilakukan agar dapat mencapai pH terbaik untuk pertumbuhan *Acetobacter*

xylinum (Piluharto, 2023). Berdasarkan penelitian Damayanti (2022), asam sitrat juga bisa digunakan untuk mengatur tingkat keasaman medium fermentasi dalam pembuatan *nata de papaya*.

Data hasil analisis pH bahan baku dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel IV. 3 Hasil Analisis pH Bahan Baku

Produk	Uji Pendahuluan	Produksi		
		I	II	III
Air Kelapa	pH	6	6	6

I: Bahan baku air kelapa untuk pembuatan nata tanpa bantuan sel imobil

II: Bahan baku air kelapa untuk pembuatan nata dengan bantuan sel imobil untuk fermentasi ulangan pertama

III: Bahan baku air kelapa untuk pembuatan nata dengan bantuan sel imobil untuk fermentasi ulangan kedua

Berdasarkan hasil analisis pH menggunakan pH indikator universal didapatkan hasil bahwa air kelapa pada fermentasi ke-1 dan ke-2 memiliki pH yang sama yaitu pH 6. Standar Bahan baku air kelapa PT Pattaya yaitu memiliki pH 3-4. Maka dari itu perlu adanya penambahan asam agar pH yang diinginkan sesuai.

Menurut Alaban (1962) yang dikutip oleh Anggraini (2019), salah satu hal yang memengaruhi proses pembuatan nata adalah tingkat keasaman media. Untuk menurunkan pH, asam asetat ditambahkan ke dalam media. Penambahan asam asetat sebanyak 2% bisa menghambat pertumbuhan

kapang, khamir, dan bakteri lain yang sering menyebabkan kontaminasi dan mengganggu pembentukan nata.

Jika pH media terlalu rendah di bawah 4, maka massa dan ketebalan nata yang dihasilkan tidak maksimal.

Hal ini terjadi karena pH media terlalu rendah dibandingkan dengan media starter yang memiliki pH 4,0. Sementara itu, jika pH terlalu tinggi di atas 4, media tersebut tidak cocok untuk pertumbuhan *Acetobacter xylinum*. Menurut McDonald (1990) yang dikutip oleh Anastasia dan Afrianto (2008), pH medium yang terlalu rendah bisa menyebabkan masalah pada proses fermentasi.

Derajat keasaman memainkan peran penting dalam proses fermentasi oleh bakteri *Acetobacter xylinum*. Menurut Sunarso (2022), semakin rendah pH media fermentasi, semakin tinggi ketebalan nata yang dihasilkan. Penurunan pH membuat pertumbuhan mikroba lain terbatas, sehingga *Acetobacter xylinum* memiliki kesempatan lebih besar untuk tumbuh dan memperoleh nutrisi dari media. pH optimal untuk menghasilkan ketebalan nata yang maksimal adalah 3,5.

pH 4 diduga sebagai pH terbaik bagi pertumbuhan *Acetobacter xylinum*, sehingga menghasilkan sekresi yang cukup untuk membentuk lapisan selulosa yang semakin tebal dan massa nata semakin bertambah. Selain itu, pada pH 4, metabolisme bakteri berjalan baik. Menurut penelitian, enzim selulosa sintase yang bekerja pada pH 4,0 merupakan pH optimal, sehingga mampu mengikat substrat dan melakukan reaksi

pembentukan selulosa dengan ikatan B-1,4 glikosida. Nuringtyas (2019) menyatakan bahwa pH mempengaruhi kinerja enzim, dan setiap enzim memiliki pH optimal untuk bekerja. Saxena (2017) menjelaskan bahwa enzim selulosa sintase digunakan untuk mengikat α -UDP glukosa pada substrat sehingga menghasilkan polimer dengan ikatan B-1,4 glikosida. Hasil penelitian tersebut didukung oleh Sutarminingsih (2024) yang menyatakan bahwa pH optimal untuk pembentukan nata adalah 4.

Menurut Handadari, dkk (2023), pH pada awal fermentasi dibuat 4 karena *Acetobacter xylinum* termasuk bakteri yang suka lingkungan asam. Dengan pH tersebut, enzim dari bakteri ini bisa bekerja optimal. Selain itu, media yang asam juga bisa mengurangi risiko kontaminasi. Pada pH yang asam, mikroorganisme tidak bisa tumbuh secara optimal, sehingga mempermudah proses fermentasi dan hasil nata yang diperoleh menjadi maksimal.

3. Hasil Fermentasi Nata de coco

Nata de coco adalah produk pangan berbentuk lembaran gel putih hingga bening, bertekstur kenyal, dan kaya serat, yang dikenal sebagai selulosa bakteri. Pembentukan nata ini merupakan hasil kerja utama bakteri *Acetobacter xylinum* yang mengoksidasi gula (glukosa, fruktosa, atau sukrosa) dalam media fermentasi menjadi asam asetat, dan kemudian mengonversi glukosa menjadi prekursor yang akan digabungkan menjadi jalinan serat selulosa ekstraseluler di permukaan media. Kualitas nata yang dihasilkan, seperti ketebalan, berat, kekenyalan, dan warnanya, sangat

dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan seperti pH media, suhu inkubasi, konsentrasi sumber karbon (gula), sumber nitrogen, kualitas starter bakteri, dan kebersihan alat (Majesty & Nugroho, 2015)

Pada tahap ini pembuatan *Nata de coco* ditambahkan dengan sel imobil juga ditambahkan starter *Acetobacter xylinum*, penambahan ke dua ini dengan perbandingan 1:3, perbandingan ini sesuai dengan penelitian terdahulu yaitu Nafiatul, 2023. Di mana perbandingan ini menghasilkan *Nata de coco* yang hampir mendekati kontrol (tidak menggunakan sel imobil).



Gambar IV. 2 *Nata de coco* hasil fermentasi pertama

Pada fermentasi pertama nata yang dihasilkan serupa dengan nata tanpa bantuan sel imobil, memiliki hasil yang cukup tebal, dan pada fermentasi pertama ini sel imobil bekerja dengan baik. Kualitas hasil fermentasi nata dapat bervariasi tergantung pada kondisi yang ada pada proses produksi. Misalnya, pH media yang terlalu tinggi atau terlalu rendah, suhu fermentasi

yang tidak optimal, atau kurangnya nutrisi esensial dapat menghambat pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dan sintesis selulosa, menghasilkan nata yang tipis, berair, atau bahkan gagal terbentuk. Kontaminasi oleh mikroorganisme lain seperti jamur juga merupakan masalah umum yang bisa merusak pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dan menyebabkan kegagalan produksi nata (Majesty & Nugroho, 2015)

Salah satu keuntungan utama penggunaan sel imobil adalah kemampuannya untuk dapat digunakan kembali (*reusable*) dalam beberapa siklus fermentasi/ulangan fermentasi. Dalam metode konvensional, *starter* biasanya harus dibuat baru untuk setiap kali produksi yang rentan terhadap kontaminasi jika disimpan. Dengan imobilisasi, sel bakteri terlindungi dalam matriks. Sel yang diimobilisasi cenderung lebih stabil terhadap perubahan lingkungan, seperti pH atau suhu, karena matriks pelindungnya. Ini artinya fermentasi yang lebih konsisten dari waktu ke waktu (Nafiatul, 2023)



Gambar IV. 3 *Nata de coco* hasil fermentasi kedua

Pada fermentasi kedua, nata yang dihasilkan serupa dengan nata tanpa bantuan sel imobil, namun ketebalannya berkurang, tidak setebal pada fermentasi pertama pembuatan nata dengan bantuan sel imobil, hal ini terjadi karena setelah dilakukan analisis TPC pada sel imobil setelah digunakan untuk fermentasi jumlah bakteri tiap *beads* nya berkurang.

Sel yang terperangkap dalam matriks imobilisasi terus-menerus terpapar kondisi lingkungan fermentasi (perubahan pH, akumulasi produk samping toksik, penipisan nutrisi). Stres ini dapat menyebabkan sel menjadi lelah secara metabolik, merusak komponen seluler, dan mengurangi kemampuan sel untuk melakukan metabolisme yang optimal untuk menghasilkan produk. (Johns, dkk, 2018)

Setiap kali *beads* digunakan dan dipindahkan, mereka mengalami stres mekanis (pengocokan, agitasi, gesekan). Stres berulang ini secara bertahap akhirnya akan merusak integritas *beads*, menyebabkan fragmentasi atau pecah. Sehingga mengganggu pembentukan selulosa pada *nata de coco* yang tidak sempurna. (Johns, dkk, 2018)

4.2.2 Pemisahan Sel Imobil Dari Lapisan Nata

Pada tahap ini *Nata de coco* yang sudah dipanen kemudian dipisahkan dengan sel imobil dengan cara disaring menggunakan kertas saring.



Gambar IV. 4 Hasil Pemisahan Sel Imobil dari Nata pada fermentasi pertama

Pada fermentasi pertama, sel imobil bentuknya masih sempurna dan dapat dipisahkan dengan mudah, setelah fermentasi pertama ini diketahui bahwa sel imobil berkurang jumlahnya dari 5 gram beads menjadi 3,841 gram, hal ini terjadi karena beberapa *beads* pada saat proses fermentasi hancur, serta setelah dilakukan analisis TPC jumlah bakteri *Acetobacter xylinum* tiap *beads* nya berkurang.

Beads imobilisasi, seperti alginate yang digunakan pada penelitian ini, dapat berkurang jumlahnya setelah fermentasi, ini dapat karena beberapa alasan utama, yang sebagian besar ada kaitannya dengan degradasi atau kerusakan matriks polimer yang menahan sel-sel tersebut, Lingkungan fermentasi seringkali mengalami perubahan pH yang drastis karena produksi metabolit asam atau basa oleh mikroorganisme. Perubahan pH ekstrem, terutama pH rendah (asam), dapat menyebabkan depolimerisasi atau hidrolisis matriks alginat, yang merupakan polisakarida. Hal ini melemahkan struktur *gel* dan membuatnya mudah pecah. (Johns, dkk, 2018)

Kehadiran ion-ion tertentu dalam medium fermentasi (terutama ion fosfat atau sitrat) dapat berinteraksi dengan ion kalsium (Ca^{2+}) yang berperan dalam menstabilkan matriks alginat. Ion-ion ini dapat mengkhelasi Ca^{2+} , menyebabkan pelepasan ion kalsium dari gel dan melemahkan integritas struktural *beads*. (Zhao, dkk, 2017)

Meskipun tidak selalu menyebabkan pengurangan jumlah *beads* secara langsung, pelepasan sel dari matriks yang lemah dapat berkontribusi pada destabilisasi *beads* secara keseluruhan. *Beads* yang kehilangan banyak selnya bisa menjadi lebih rapuh dan rentan terhadap pecah, sehingga mengurangi viabilitas nya.



Gambar IV. 5 Hasil Pemisahan Sel Imobil dari Nata pada fermentasi kedua

Pada fermentasi kedua diketahui bahwa tidak ada sel imobil yang tersisa, yang artinya seluruh *beads* hancur, atau ikut terbentuk selulosa atau ikut larut dalam air kelapa sisa fermentasi, hal ini artinya bahwa sel imobil pada penelitian ini hanya bisa digunakan sebanyak dua kali fermentasi.

Antara satu ulangan fermentasi dengan ulangan berikutnya, *beads* imobilisasi dipisahkan dari media lama dan dicuci sebelum ditempatkan ke media baru. Pada proses pemisahan dan pencucian ini bisa saja menyebabkan stres mekanis atau osmotik yang merusak sel.

Sel imobil atau sel yang diimobilisasi adalah sel yang secara fisik dibatasi atau terlokalisasi dalam suatu area tertentu, namun tetap mempertahankan aktivitas katalitiknya dan dapat digunakan berulang kali. Matriks imobilisasi (alginat) dapat terdegradasi seiring waktu karena faktor kimia, fisik, atau mikrobiologi. Jika matriks rusak, perlindungan terhadap sel juga akan berkurang. Meskipun diimobilisasi, sel ini masih bisa mengalami lisis atau pecah. (Nabil, 2021)

Lisis merupakan peristiwa pecahnya integritas membran sel dan menyebabkan keluarnya organel sel. Autolisis pada sel dapat menyebabkan mitokondria mengeluarkan enzim, dalam penelitian ini yaitu enzim selulase yang dapat menghancurkan membran sel, sehingga sel mengalami kerusakan dan komponen sel akan hilang, serta sel tidak mampu lagi menghasilkan enzim selulase. (Nabil, 2021)

4.3 Pengukuran Efektifitas

4.3.1 Ketebalan *Nata de coco*

Data hasil analisis ketebalan *Nata de coco* dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel IV. 4 Statistik Ketebalan *Nata de coco*

Produk	Pengukuran	Ketebalan tiap sisi (cm)				Rata-rata	SD	Rata-rata $\pm$ SD
		I	II	III	IV			
<i>Nata de coco</i>	A	0.25	0.26	0.2	0.25	0.25	0.008	0.25 $\pm$ 0.008
	B	0.24	0.23	0.2	0.23	0.23333	0.005	0.23 $\pm$ 0.005
	C	0.25	0.24	0.3	0.25	0.24667	0.005	0.24 $\pm$ 0.005

Keterangan:

A: *Nata de coco* tanpa bantuan sel imobil (kontrol)

C: *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil pada fermentasi pertama

B: *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil pada fermentasi kedua

Berdasarkan hasil pengukuran ketebalan *Nata de coco* menunjukan bahwa pada fermentasi pertama ketebalan nata sangat mendekati kontrol dan fermentasi kedua ketebalan nata sedikit berkurang, namun hampir mendekati kontrol.

Tebal nata yang terbentuk bergantung pada jumlah gula yang ditambahkan sebagai sumber nutrisi. Semakin banyak jumlah yang gula yang ditambahkan sebagai sumber nutrisi, maka kemampuan *Acetobacter xylinum* dalam merubah gula menjadi selulosa semakin optimal karena tercukupinya sumber nutrisi, sehingga nata yang dihasilkan akan semakin tebal

Penambahan sukrosa menyebabkan peningkatan ketebalan nata. Hal ini sesuai dengan pendapat Naufalin dan Wibowo (2024) yang menyatakan bahwa semakin banyak penambahan sukrosa maka akan meningkatkan ketebalan nata. Sukrosa merupakan sumber karbon yang digunakan *Acetobacter xylinum* untuk melakukan 4ktivitas metabolisme dan sebagian lagi untuk membentuk nata, dengan kata lain *Acetobacter xylinum* tersebut akan membentuk nata jika nutrisi di dalam media tercukupi. Hal ini sesuai dengan pendapat (Hamad, dkk, 2014) yang

menyatakan bahwa selulosa merupakan metabolit sekunder yang akan terbentuk jika nutrisi yang tersedia cukup.

Penambahan sukrosa dapat meningkatkan ketebalan nata karena semakin banyak sukrosa yang ditambahkan maka semakin banyak selulosa yang terbentuk sehingga semakin tebal nata. Pada medium fermentasi semakin meningkat kadar gula yang ditambahkan maka semakin banyak gula yang dipecah menjadi selulosa, selulosa-selulosa tersebut akan berikatan satu sama lain membentuk lapisan nata yang terus menebal. Tetapi jika terlalu banyak gula yang ditambahkan maka ketebalan nata akan tipis. Hal ini sesuai dengan pendapat (Herawaty & Moulina, 2015) yang menyatakan bahwa penambahan gula yang berlebihan akan mengakibatkan pertumbuhan bakteri terganggu dan mengakibatkan banyak gula yang diubah menjadi asam dan penurunan pH secara signifikan sehingga nata yang dihasilkan tidak maksimal.

Pada fermentasi kedua ketebalan nata berkurang, hal ini bisa terjadi karena sumber nutrisi yang kurang terpenuhi, karna Dalam prosesnya komponen gula dalam medium dipecah oleh *Acetobacter xylinum* sehingga terbentuk polisakarida yaitu selulosa. Selulosa tersebut membentuk benang-benang serat yang terus menebal membentuk jaringan kuat yang disebut palikel nata (Herawaty & Moulina, 2015).

4.3.2 Rendemen *Nata de coco*

Tabel IV. 5 Data Statistik hasil analisis rendemen *Nata*

Pengukuran	Nata de coco			Rata-rata	SD	Rata-rata±SD
	A	B	C			
%Rendemen	48.65	46.25	45.07	46.65666667	1.82	46.65±1.824

Keterangan:

A: *Nata de coco* tanpa bantuan sel imobil (kontrol)

C: *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil pada fermentasi pertama

B: *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil pada fermentasi kedua

Berdasarkan hasil analisis rendemen *Nata de coco* didapatkan bahwa pada fermentasi pertama % rendemen yaitu sebesar 46,25% yang hampir mendekati kontrol, sementara pada fermentasi kedua %rendemen menurun menjadi 45,07%

Sukrosa merupakan sumber nutrisi utama yang dibutuhkan oleh *Acetobacter xylinum* untuk metabolismenya dalam pembuatan nata. Jumlah sukrosa yang ditambahkan dapat mempengaruhi besar atau kecilnya rendemen nata yang dihasilkan. Hal ini dibuktikan oleh penelitian (Novita, 2016), yang menyatakan bahwa semakin banyak gula yang ditambahkan ke dalam medium, maka rendemen nata juga akan meningkat sampai batas konsentrasi tertentu, karna gula tersedia sebagai sumber kalori dan bahan yang disintesis jadi selulosa.

Rendemen nata berkisar antara 22,79%-32,93% (Barlina dan Lay, 1994). Semakin besar rendemen nata, maka semakin banyak produk nata yang dihasilkan dari jumlah bahan baku yang sama, rendemen nata yang tinggi menunjukkan efisiensi proses produksi yang lebih baik, karena lebih banyak produk nata yang diperoleh dari volume bahan baku yang sama.

Rendemen nata tanpa bantuan sel imobil (kontrol) yaitu sebesar 48,65% yang artinya dalam 100 ml air kelapa yang digunakan dihasilkan 48,65 gram nata, rendemen nata dengan bantuan sel imobil pada fermentasi pertama yaitu sebesar 46,62% atau yang artinya dalam 100 ml air kelapa yang digunakan dihasilkan 46,62 gram nata, kemudian rendemen nata dengan bantuan sel imobil pada fermentasi kedua yaitu sebesar 45,07% yang artinya dalam 100ml air kelapa yang digunakan dihasilkan 45,07 gram nata.

Rendemen nata yang didapatkan pada fermentasi kedua menurun sekitar 1,55%, dari 46,62% menjadi 45,07%, hal ini dapat terjadi karena sel imobil yang digunakan viabilitas nya menurun, sehingga menurunkan juga berat nata yang dihasilkan.

Pengurangan persentase hasil produksi nata pada fermentasi yang dilakukan lagi atau siklus berikutnya adalah hal yang sering terjadi. Hal ini terjadi oleh kombinasi berbagai faktor biologis dan fisik yang memengaruhi kehidupan dan aktivitas bakteri *Acetobacter xylinum*, serta kondisi media dan *starter*. Setelah siklus fermentasi pertama, bakteri dalam starter, baik yang terikat dalam matriks maupun yang bebas, mengalami tekanan metabolik karena terus terpapar kondisi fermentasi yang keras, seperti penurunan pH secara signifikan, pengumpulan zat toksik (seperti asam asetat dalam jumlah banyak), dan kekurangan bahan makanan. Tekanan ini menyebabkan penurunan daya tahan sel, laju pertumbuhan, serta kemampuan mengubah gula menjadi selulosa,

sehingga jumlah selulosa yang dihasilkan pada siklus berikutnya berkurang. (Tohamy, 2020)

Selain faktor biologis, juga ada faktor fisik dan kimia yang memengaruhi penurunan hasil. Misalnya, jika bakteri diimbobilisasi, matriks seperti alginat bisa menjadi lemah atau rusak akibat kondisi asam dan kejutan selama siklus pertama. Hal ini bisa menyebabkan sel terlepas (*cell leakage*) atau perlindungan terhadap bakteri menjadi buruk. Akibatnya, jumlah sel yang aktif dan terlindungi untuk fermentasi berikutnya menjadi lebih sedikit. Bahkan untuk fermentasi sel bebas, penumpukan sisa atau perubahan lingkungan mikro dalam media bisa menghambat pertumbuhan bakteri pada fermentasi ulang. Oleh karena itu, penurunan hasil pada fermentasi kedua biasanya menunjukkan bahwa kemampuan bakteri menghasilkan selulosa telah menurun atau lingkungan fermentasi tidak lagi mendukung pertumbuhan optimalnya. (Tohamy, 2020)

4.4 Pengukuran Nilai Ekonomis

Perhitungan keekonomisan (perhitungan harga pokok produksi) dengan cara membandingkan pembuatan *Nata de coco* tanpa bantuan sel imobil dengan pembuatan *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil menggunakan metode *Full Costing*

Metode *Full Costing* adalah salah satu pendekatan dalam penentuan harga pokok produksi (HPP) yang menginkorporasikan semua unsur biaya produksi ke dalam perhitungan HPP suatu produk, tanpa membedakan apakah biaya tersebut

bersifat variabel atau tetap. Ini berarti, dalam Full Costing, HPP per unit produk akan mencakup biaya bahan baku langsung, biaya tenaga kerja langsung, biaya *overhead* pabrik variabel, dan juga biaya *overhead* pabrik tetap. Dengan demikian, biaya *overhead* pabrik tetap yang merupakan biaya periode, tetap dibebankan kepada produk. Pendekatan ini memberikan gambaran biaya produksi yang komprehensif dan sering digunakan untuk tujuan pelaporan eksternal, penetapan harga jual jangka panjang, serta penilaian persediaan, karena semua biaya yang terkait langsung dengan proses produksi akan melekat pada produk hingga terjual. (Putra, dkk, 2024)

Metode *Full Costing* menghasilkan biaya produksi per unit yang lebih tinggi dibandingkan metode *Variable Costing* karena mempertimbangkan biaya *overhead* tetap pabrik. Metode ini cocok digunakan oleh perusahaan yang memproduksi barang dalam jumlah besar atau memiliki biaya *overhead* tetap yang tinggi, karena mampu mendistribusikan seluruh biaya produksi ke setiap unit yang dihasilkan. Dengan demikian, metode ini membantu menentukan harga jual yang lebih tepat dan memastikan semua biaya dapat dikembalikan. Namun, salah satu kekurangan dari metode ini adalah dapat menyembunyikan pengaruh perubahan volume produksi terhadap laba, karena biaya tetap per unit akan berubah sesuai dengan jumlah produksi. Banyak penelitian telah mengevaluasi penggunaan metode ini di berbagai sektor industri untuk memastikan tingkat keakuratannya dalam menghitung harga pokok produksi (Putra, dkk, 2024).

4.5.1 Perhitungan Jumlah Produk yang dihasilkan Per Bulan

1. Perhitungan Produk yang dihasilkan Tanpa Bantuan Sel Imobil

Tabel IV. 6 Perhitungan jumlah produk yang dihasilkan tanpa bantuan sel imobil

No.	Produk	Satuan	Kuantitas	Berat Nata (kg)	Jumlah (kg)
1.	<i>Nata de coco</i>	3000	Liter	486,5	1459,5

Tabel IV. 7 Perhitungan jumlah produk yang dihasilkan dengan bantuan sel imobil

No.	Produk	Satuan	Kuantitas	Berat Nata (kg)	Jumlah (kg)
1.	<i>Nata de coco</i>	3000	Liter	456,6	1369,8

Tabel IV. 8 Perhitungan jumlah produk nata per kemasan

No.	Produk	Jumlah (kg)	Kuantitas per kemasan (kg)	Jumlah Kemasan (<i>cup</i>)
1.	<i>Nata de coco</i> tanpa bantuan sel imobil	1459,5	0,025	58380
2	<i>Nata de coco</i> dengan bantuan sel imobil	1369,8	0,025	54792

Berdasarkan pengukuran rendemen *Nata de coco* dapat diketahui bahwa dari bahan baku air kelapa sebanyak 100 ml jumlah produk yang dihasilkan tanpa bantuan sel imobil sebesar 48,65 gram sedangkan dengan bantuan sel imobil sebesar 45,66 gram. PT Pattaya perbulan menggunakan 3000 liter bahan baku air kelapa tiap bulannya, maka perhitungan di *mark up*, sehingga hasilnya dapat dilihat pada tabel 8 dan 9. Sehingga didapatkan jumlah kemasan (*cup*) yang dihasilkan tiap bulan untuk produksi tanpa bantuan sel

imobil sebanyak 58380 sedangkan jumlah kemasan (*cup*) yang dihasilkan tiap bulan untuk produksi dengan bantuan selimobil sebanyak 54792 dapat dilihat pada tabel 11.

4.5.2 Perhitungan Harga Pokok Produksi PT Pattaya

1. Perhitungan biaya bahan baku

Tabel IV. 9 Perhitungan Biaya Bahan Baku Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi

Bahan baku	Satuan	Kuantitas	Harga	Jumlah
Air Kelapa Tua	3000	Liter	Rp2.000,00	Rp6.000.000,00
Gula	450	Kg	Rp17.500,00	Rp7.875.000,00
Cuka	150	Liter	Rp25.600,00	Rp3.840.000,00
ZA <i>food grade</i>	30	Kg	Rp90.000,00	Rp2.700.000,00
<i>Starter</i>	600	Liter	Rp20.000,00	Rp12.000.000,00
<i>Acetobacter xylinum</i>				
Total				Rp32.415.000

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

2. Perhitungan biaya tenaga kerja

Tabel IV. 10 Perhitungan Biaya Tenaga Kerja Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi

Keterangan	Jumlah Pekerja	Gaji Perbulan	Jumlah
Bagian	5 Orang	Rp2.550.000,00	Rp12.750.000,00
Penyaringan dan pemanasan			

Keterangan	Jumlah Pekerja	Gaji Perbulan	Jumlah
Bagian fermentasi dan pemanenan	5 Orang	Rp2.550.000,00	Rp12.750.000,00
Bagian pencetakan dan pengemasan	5 Orang	Rp2.550.000,00	Rp12.750.000,00
Total			Rp38.250.000,00

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

3. Perhitungan Biaya *Overhead* Pabrik

Tabel IV. 11 Perhitungan Biaya Bahan Penolong Per Hari Dalam Satu Kali Produksi

Bahan	Satuan	Kuantitas	Harga	Jumlah
baku				
Gas LPG	30	Tabung	Rp10.000,00	Rp300.000,00
Koran	30	<i>Pack</i>	Rp5.000,00	Rp150.000,00
Label	30	<i>Pack</i>	Rp6.000,00	Rp180.000,00
Pengemasannya				
Karet	15	<i>Pack</i>	Rp3.000,00	Rp45.000,00
Plastik <i>Cup</i>	600	<i>Pack</i>	Rp6.000,00	Rp3.600.000,00
Total				Rp4.275.000,00

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

Tabel IV. 12 Biaya Pemeliharaan Peralatan Per Hari Dalam Satu Kali Produksi

Keterangan	Kuantitas	Waktu	Jumlah
Service kompor	3	Bulan	Rp90.000,00
Service Mesin Pencetakan	1	Bulan	Rp425.000,00
Service Mesin Sealer	1	Bulan	Rp425.000,00
			Rp940.000,00

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

Tabel IV. 13 Perhitungan Biaya Penyusutan Peralatan Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi

Keterangan	Harga Perolehan	Umur Ekonomis	Beban Penyusutan
Kompor	Rp1.050.000,00	84 bulan	$Rp1.050.000,00 \div 84 = 12.500,00/\text{bln}$
Panci Besar	Rp1.800.000,00	120 bulan	$Rp1.800.000,00 \div 120 = 15.000,00/\text{bln}$
Mesin Pencetakan	Rp150.000.000,00	120 bulan	$Rp150.000.000,00 \div 120 = 1.250.000,00/\text{bln}$
Mesin Sealer	Rp80.000.000,00	120 bulan	$Rp80.000.000,00 \div 120 = 667.000,00/\text{bln}$

Keterangan	Harga Perolehan	Umur Ekonomis	Beban Penyusutan
Pengaduk	Rp75.000,00	12 bulan	$Rp75.000,00 \div 12 = 6.250,00/$ bln
Nampan Plastik	Rp650.000,00	120 bulan	$Rp650.000,00 \div 120 = 5.417,$ 00/bln
			Rp1.956.167,00

Sumber: Data olahan penulis, Juli 2025

4. Perhitungan Harga Pokok Produksi

Tabel IV. 14 Perhitungan Harga Pokok Produksi Per Bulan

Biaya Bahan Baku	Rp32.415.000
Biaya Tenaga Kerja	Rp38.250.000,00
BOP Variabel	
- Biaya bahan penolong	Rp4.275.000,00
Total BOP Variabel	Rp4.275.000,00
BOP Tetap	
- Biaya Pemeliharaan	Rp940.000,00
- Biaya Penyusutan	Rp1.956.167,00
Total BOP Tetap	Rp2.896.167

Total Biaya Produksi	Rp77.836.167,00
Jumlah produk yang dihasilkan 58380 <i>cup</i>	
$Rp77.836.167,00 \div 58380 = Rp1.333.267,00$	
Sumber: Data olahan penulis, Juli 2025	

4.5.3 Perhitungan Harga Pokok dengan bantuan sel imobil

1. Perhitungan biaya bahan baku

Tabel IV. 15 Perhitungan Biaya Bahan Baku Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi

Bahan baku	Satuan	Kuantitas	Harga	Jumlah
Air Kelapa	3000	Liter	Rp2.000,00	Rp6.000.000,00
Tua				
Gula	450	Kg	Rp17.500,00	Rp7.875.000,00
Cuka	150	Liter	Rp25.600,00	Rp3.840.000,00
ZA <i>food grade</i>	30	Kg	Rp90.000,00	Rp2.700.000,00
<i>Starter</i>	525	Liter	Rp20.000,00	Rp10.500.000,00
<i>Acetobacter xylinum</i>				
Na-alginat	150	Gram	Rp680,00	Rp102.000,00
CaCl ₂	150	Gram	Rp40,00	Rp6.000,00
Total				Rp31.023.000

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

2. Perhitungan biaya tenaga kerja

Tabel IV. 16 Perhitungan Biaya Tenaga Kerja Per Hari Dalam Satu Kali Produksi

Keterangan	Jumlah Pekerja	Gaji Perhari	Jumlah
Bagian Penyaringan dan pemanasan	5 Orang	Rp2.550.000,00	Rp12.750.000,00
Bagian fermentasi dan pemanenan	5 Orang	Rp2.550.000,00	Rp12.750.000,00
Bagian pencetakan dan pengemasan	5 Orang	Rp2.550.000,00	Rp12.750.000,00
			Rp38.250.000,00

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

3. Perhitungan Biaya Overhead Pabrik

Tabel IV. 17 Perhitungan Biaya Bahan Penolong Per Hari Dalam Satu Kali Produksi

Bahan baku	Satuan	Kuantitas	Harga	Jumlah
Gas LPG	30	Tabung	Rp10.000,00	Rp300.000,00
Koran	30	<i>Pack</i>	Rp5.000,00	Rp150.000,00
Label	30	<i>Pack</i>	Rp6.000,00	Rp180.000,00
Pengemasan				
Karet	15	<i>Pack</i>	Rp3.000,00	Rp45.000,00
Plastik <i>Cup</i>	600	<i>Pack</i>	Rp6.000,00	Rp3.600.000,00
Total				Rp4.275.000,00

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

Tabel IV. 18 Biaya Pemeliharaan Peralatan Per Hari Dalam Satu Kali Produksi

Keterangan	Kuantitas	Waktu	Jumlah
Service kompor	3	Bulan	Rp90.000,00
Service Mesin Pencetakan	1	Bulan	Rp425.000,00
Service Mesin Sealer	1	Bulan	Rp425.000,00
Total			Rp940.000,00

Sumber: Data Olahan Penulis, Juli 2025

Tabel IV. 19 Perhitungan Biaya Penyusutan Peralatan Per Hari Dalam Satu Kali Produksi

Keterangan	Harga Perolehan	Umur Ekonomis	Beban Penyusutan
Kompor	Rp1.050.000,00	84 bulan	$Rp1.050.000,00 \div 84 = 12.500/\text{bln}$
Panci Besar	Rp1.800.000,00	120 bulan	$Rp1.800.000,00 \div 120 = 15.000,00/\text{bln}$
Mesin Pencetakan	Rp150.000.000,00	120 bulan	$Rp150.000.000,00 \div 120 = 1.250.000,00/\text{bln}$
Mesin Sealer	Rp80.000.000,00	120 bulan	$Rp80.000.000,00 \div 120 = 667.000,00/\text{bln}$
Pengaduk	Rp75.000,00	12 bulan	$Rp75.000,00 \div 12 = 6.250,00/\text{bln}$

Keterangan	Harga	Umur	Beban Penyusutan
	Perolehan	Ekonomis	
Nampan Plastik	Rp650.000,00	120 bulan	$Rp650.000,00 \div 120 = 5.417,00/bl$ n
			Rp1.956.167,00

Sumber: Data olahan penulis, Juli 2025

4. Perhitungan Harga Pokok Produksi

Tabel IV. 20 Perhitungan Harga Pokok Produksi Per Bulan

Biaya Bahan Baku	Rp31.023.000,00
Biaya Tenaga Kerja	Rp38.250.000,00
BOP Variabel	
- Biaya bahan penolong	Rp4.275.000,00
Total BOP Variabel	Rp4.275.000,00
BOP Tetap	
- Biaya Pemeliharaan	Rp940.000,00
- Biaya Penyusutan	Rp1.956.167,00
Total BOP Tetap	Rp2.896.167
Total Biaya Produksi	Rp76.444.167,00
Jumlah produk yang dihasilkan 54792 <i>cup</i>	
$Rp76.444.167,00 \div 54792 = Rp1.395.170,00$	

Sumber: Data olahan penulis, Juli 2025

4.5.4 Perbandingan Perhitungan Harga Pokok Produksi

Tabel IV. 21 Perbandingan Perhitungan Harga Pokok Produksi Per Bulan Dalam Satu Kali Produksi

Keterangan	Pembuatan <i>Nata de coco</i> tanpa sel imobil	Pembuatan <i>Nata de coco</i> dengan bantuan sel imobil	Selisih
Biaya Produksi	Rp77.836.167,00	Rp76.444.167,00	Rp1.392.000,00
Jumlah yang diproduksi	58380 <i>cup</i>	54792 <i>cup</i>	3588 <i>cup</i>
Harga pokok per bungkus	Rp1.333.267,00	Rp1.395.170,00	Rp61.903,00

Sumber: Data olahan penulis, Juli 2025

Berdasarkan hasil perhitungan biaya produksi dan harga pokok per produksi didapatkan bahwa biaya produksi pembuatan *Nata de coco* tanpa sel imobil adalah sebesar Rp77.836.167,00 sedangkan Pembuatan *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil adalah sebesar Rp76.444.167,00, maka dari itu selisih nya adalah sebesar Rp1.392.000,00, yang artinya biaya produksi lebih hemat/ekonomis sebesar Rp1.392.000,00 tiap bulannya jika membuat nata de coco dengan bantuan sel imobil, pada jumlah yang hasil produksi pembuatan *Nata de coco* tanpa sel imobil adalah sebanyak 58380 cup sedangkan pembuatan *Nata*

de coco dengan bantuan sel imobil adalah sebanyak 54792, maka dari itu selisih produk yang dihasilkan sebanyak 3588, yang artinya untuk jumlah produk yang diproduksi kurang ekonomis, pada harga pokok produksi pembuatan *Nata de coco* tanpa sel imobil adalah sebesar Rp1.333.267,00 sedangkan Pembuatan *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil adalah sebesar Rp1.395.170,00, maka selisih harga pokok produksi sebesar Rp61,903,00, maka untuk harga pokok produksi kurang ekonomis.

Setelah dilakukan perhitungan nilai ekonomis metode *full costing*, biaya produksi pada pembuatan nata yang dihasilkan lebih ekonomis .dengan bantuan sel imobil. Penggunaan sel imobilisasi dapat secara signifikan mengurangi biaya produksi dalam pembuatan produk fermentasi seperti *nata de coco*, terutama melalui peningkatan efisiensi proses dan penghematan bahan baku *starter*. Dengan menjebak sel bakteri *Acetobacter xylinum* dalam matriks seperti alginat, sel-sel tersebut terlindungi dari kondisi lingkungan fermentasi yang keras, memungkinkan mereka untuk mempertahankan viabilitas dan aktivitas metabolisme yang lebih baik dalam jangka waktu yang lebih lama. (Tohamy, 2020)

Salah satu cara terbaik untuk mengurangi biaya produksi adalah dengan menggunakan sel imobilisasi. Dalam metode tradisional, setiap proses fermentasi biasanya membutuhkan persiapan kultur starter yang baru, yang memakan biaya bahan media, energi untuk sterilisasi, serta tenaga dan waktu. Dengan sel imobilisasi, kultur *starter* bisa digunakan berulang kali dalam beberapa siklus fermentasi secara beruntun tanpa harus dibuat dari awal. Ini menghemat biaya

yang sangat besar karena mengurangi penggunaan bahan kimia, konsumsi energi, serta waktu dan tenaga kerja untuk persiapan dan perawatan kultur. (Tohamy, 2020)

Selain menghemat biaya pada kultur *starter*, sel imobilisasi juga memperbaiki efisiensi biaya melalui peningkatan produktivitas dan memudahkan proses pemisahan. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa sel imobilisasi mampu menghasilkan produk dengan laju yang setara atau bahkan lebih cepat dalam kondisi tertentu, sehingga produksi bisa lebih efisien per unit waktu dan volume bioreaktor. Kemudahan dalam memisahkan beads imobilisasi dari produk nata yang sudah jadi juga mengurangi biaya serta waktu untuk proses pemurnian. Dengan demikian, produk akhir menjadi lebih bersih dan mengurangi kerugian selama tahap pemanenan. Efisiensi operasional ini secara langsung menurunkan biaya operasional keseluruhan, menjadikan metode imobilisasi sebagai investasi yang menguntungkan jangka panjang. (Putra, 2024)

Secara keseluruhan, meskipun memerlukan investasi awal untuk bahan matriks dan proses imobilisasi, manfaat jangka panjang dari sel imobilisasi termasuk peningkatan stabilitas sel, reusabilitas kultur, dan penyederhanaan proses. Hal ini menjadikannya strategi yang efektif untuk mengurangi biaya operasional produksi produk fermentasi seperti *nata de coco*. Efisiensi yang meningkat berdampak langsung pada penurunan biaya produksi per unit produk. (Putra, 2024)

V. KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini menjelaskan mengenai: (1) Kesimpulan, dan (2) Saran.

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis yang telah penulis lakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

- a. Hasil pembuatan *nata de coco* dengan sel imobil *Acetobacter xylinum* lebih rendah dari hasil pembuatan *nata de coco* tanpa sel imobil *Acetobacter xylinum*, sehingga tidak efektif untuk digunakan di PT Pattaya
- b. Biaya pembuatan *nata de coco* yang dibantu dengan bakteri terimobilisasi lebih tinggi dari biaya pembuatan *nata de coco* tanpa bantuan bakteri terimobilisasi, sehingga tidak ekonomis dan tidak layak digunakan di PT Pattaya

5.2 Saran

Berdasarkan hasil analisis yang telah penulis lakukan terdapat beberapa saran, yaitu:

1. Sebaiknya perlu dilakukan optimasi konsentrasi NA-alginat dan CaCl_2 yang digunakan untuk membuat sel imobil dengan konsentrasi yang optimum
2. Sebaiknya perlu dilakukan perlakuan khusus agar sel terimobilisasi tidak mudah pecah
3. Sebaiknya Perlu dilakukan pengujian untuk mengukur daya tahan sel imobil

4. Sebaiknya perlu dilakukan pengamatan ukuran dari pori sel imobil dengan bantuan alat SEM
5. Sebaiknya perlu dilakukan perhitungan TPC untuk bakteri *Acetobacter xylinum*, sebagai perbandingan dengan jumlah bakteri di dalam sel imobil.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, H, & Iqbal, M,. 2019. *Pengelolaan Keuangan Daerah*. Yogyakarta: Unit Penerbit dan Percetakan Sekolah Tinggi Ilmu Manajemen YKPN.
- Alviani, D. 2018. Pengaruh Konsentrasi Gula Kelapa dan *Starter Acetobacter xylinum* Terhadap Kualitas Fisik dan Kimiawi Nata de Leri. Skripsi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang.
- AOAC International. 2016. *Appendix F: Guideline for Standard Method Performance Requirement*. *AOAC Official Method of Analysis*. AOAC International, pp. 1-18.
- Ardiningsih, P., Rose, D., dan Idiawati, N. 2018. Karakteristik *Nata de Jackfruit (Artocarpus heterophyllus)* dengan Variasi Konsentrasi *Starter Acetobacter xylinum*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1-7
- Barlina, R. & A. Lay. 1994. Pengolahan Nira Kelapa Untuk Produksi Fermentasi Nata de coco, Alkohol dan Asam Cuka. *Jurnal Penelitian Kelapa*, 7(2). Balai Penelitian Kelapa, Manado
- Basyal, K., Arouguz, A.Z., Adiguel, Z., Baysal, B.M. 2023. *Chitosan/alginate crosslinked hydrogels: Preparation characterization and application for cell growth purposes*, *International Journal of Biological Macromolecules*, 59,342-348.
- Betha, O. 2009. Amobilisasi Sel *Lactobacillus acidophilus* FNCC116 dan *Bacillus licheniformis* F11.4 untuk Demineralisasi dan Deproteinasi Limbah Kulit Udang dalam Pengolahan Kitin. *Thesis*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia. 104.
- Brena, B.M., dan Batista-Viera, F. .2006. *Immobilization of Enzymes*, Humana Press, Spanyol.
- Brodelius, P., Dalam: T.K. Ghose (Ed), *Advances in Biochemical Engineering*, 10, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, New York. 1987. 75-125
- Cottrel, Kovacs P. 1980. Alginats . Di dalam : Davidson RI, editor. *Hand Book Of Water Soluble Gums and Resin*. New York. Mc Graw-Hill Book Co.

- Daljono. 2021. *Akuntansi Biaya: Penentuan Harga Pokok dan Pengendalian*: Edisi Ketiga. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- Darmawan, N, A., dan Pradipta, A. 2015. *Characterization of Nata de Coco Produced by Fermentation of Immobilized Acetobacter xylinum. Agriculture and Agricultural Science*. 3 : 278-282.
- Daudi, R. 2022. Sintesis Biodiesel Rute NonAlkohol Dari Minyak Goreng Dengan Biokatalis Melalui Terimobilisasi *Entrapment* Pada Reaktor *Batch* dan Pada *Reaktor Packed Bed*. Skripsi. Depok: Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Dzionic, A., D. Wojcieszynska dan U. Guzik. 2016. *Natural carriers in bioremediations: a review. Electronic Journal of Biotechnology*. 23: 28-36.
- F.G. Winarno & Sergio A., 2017. *Gastronomi Molekuler*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- G. T. Johns, E. A. Edeogu, & U. C. Adewole. 2018. *Factors Affecting the Stability of Immobilized Yeast Cells in Alginate Beads for Bioethanol Production. Journal of Applied Science and Environmental Management*, 22(7), 1205-1210
- Hadast Hecht & Simcha Sbrenik. 2016. *Sequence-dependent association of alginate with sodium and calcium counterions*. Vol 157. 1144-1152
- Halib, N., Iqbal, M.C., Amin, M., & Ahmad, I. 2022. *Physical and Characterization of Nata de Coco from Local Food Industries as a Source of Cellulose. Sains Malaysiana*, 41(2), 205-211.
- Hamad, A., N. A. Handayani, dan E. Puspawiningtyas. 2024. Pengaruh umur *starter Acetobacter xylinum* terhadap produksi nata de coco. *Techno* 15(1): 37-49.
- Harrigan, W.F. & McCance, M. E. 1976. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*. London: Academic Press.
- Hassanzadeh, A, M., Khiabani, M, S., Sadrnia, M., Divband, B., Rahmanpour, O., Jabbari, V., Gholizadeh, P., and Kafil, H.S. 2017. *Immobilization And*

- Microencapsulation of Lactobacillus caseii and Lactobacillus Plantarum Using Zeolite Base And Evaluating Their Viability In GastroesophagealIntes-Tine Simulated. Ars Pharm.* 58 (4) : 163-170.
- Herawaty, N., & Moulina, M. A. 2015. Kajian Variasi Konsentrasi Sukrosa Terhadap Karakteristik Nata Timun Suri (*Cucumis sativus L.*). AGRITEPA: Jurnal Ilmu dan Teknologi Pertanian, 2(2), 89-104
- Hermanto. 2017. Akuntansi Biaya Sistem Biaya Historisis. CV Andi Offset.
- Holt G.J. & D. Hendrick. 1994. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology The William and Wilkins Company*, Maryland USA.
- Ihsanudin. 2017. Prarancangan Pabrik Kalsium Klorida dari Kalsium Karbonat dan Asam Klorida Kapasitas 20.000 Ton/Tahun. Tesis. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Lathifa Indraningtyas, Maria Erna, Nafiatul Fitriah 2024. *Physical Characteristics Of Immobilized Cells Acetobacter Xylinum Of Various Concentrations of Na-Alginate. Departement Of Agricultural Product Technology, Faculty Of Agriculture*, Universitas Lampung.
- Lestari, Puji. 2023. *Study on The Production of Bacterial Cellulose from Acetobacter xylinum using Agro-Waste. Jordan Journal of Biological Science*, 7 (1).
- Le-Tien, C., M. Millete, M.A. Mateescu, dan M. Lacroix. 2004. *Modified alginate and chitosan for lactic acid bacteria immobilization. Biotechnol. Appl. Biochem.* 39: 347354.
- M. A. A. Al-Tohamy, A. E. El-Melegy, M. A. Metwally, & M. I. Abouaid. 2020. *Effect of Reusability Of Immobilized Saccharomyces cerevisiae on Bioethanol Production. Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 8(2), 76-83.
- M. Yunita, Y. Hendrawan, and R. Yulianingsih. 2015 “Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (Total Plate Count) Dengan Metode Pour Plate Quantitative Analysis of Food Microbiology In Flight (Aerofood

- ACS) Garuda Indonesia *Based on the,*” keteknikan Pertan. ropis dan Biosist., X(X).
- Madigan,. 2018. *Brock Biology of Microorganisms 5t edition*. New York: Pearson.
- Mahmudi. 2019. Analisis Laporan Keuangan Pemerintah Daerah. Yogyakarta: Penerbit STIM YPKN. Mahsun, M.
- Majesty, J., Argo, B. D., dan Nugroho, W. A. 2015. Pengaruh Penambahan Sukrosa dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Serat Nata dari Sari Nanas (Nata de Pina). *Jurnal Leteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem* 3(1): 80-85.
- McHugh, D.J. 2003. *A Guide To The Seaweed Industry. FAO Fisheries Technical Paper 44. Food and Agriculture Organization Of TheUnited Nation. Rome: 105*
- Mubarokah, I. 2018. Pengaruh Konsentrasi Alginat Terhadap Karakteristik *Sel Pseudomonas Fluorescens* Terimobilisasi Untuk Produksi Biodiesel. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. 87
- Muhammad Asril, Widya Lestari, Basuki, Muhammad Fahyu, Refa Figriyanto, Sri Sudewi, Monica Kharisma, Maria Paulina, dan Wiwin Rewini. 2023. Mikroorganisme Pelarut Fosfat pada Pertanian Berkelanjutan. Yayasan Kita Menulis. 87-91
- Mulyadi. 2015. Akutansi Biaya (5th ed). Unit Penerbit dan Percetakan.Sekolah Tinggi Ilmu Manajemen YKPN.
- Nabil, M,. 2021. Pembuatan Bioetanol Dengan Teknik Imobilisasi Sel *Saccharomyces cerevisiae* Dari Limbah Kertas HVS. *Jurnal Teknik Kimia Vokasional (JIMSI)*, 1(2), 45-50.
- Nafiatul Fitriah 2023. Imobilisasi Kultur *Acetobacter Xylinum* Menggunakan Perbedaan Konsentrasi Na-Alginat Untuk Produksi Nata De Coco. Jurusan Teknologi Hasil Pertaian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
- Naufalin, R., & Wibowo, C. 2024. Pemanfaatan Hasil Samping Pengolahan Tepung Tapioka Untuk Pembuatan Nata de Cassava: Kajian Penambahan

- Sukrosa dan Ekstrak Kecambah. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*, XV(2), 153-158.
- Ningsih, D.P., Asriningtyas, I., & Wulansari, N. 2021. Karakteristik Nata de Sea Weed dengan Konsentrasi Bakteri *Acetobacter xylinum*. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 7(2), 112–124.
- Novita, R., Hamzah, F., & Restuhadi, F. 2016. Optimalisasi Konsentrasi Sukrosa Dan Ammonium Sulfat Pada Produksi *Nata De Citrus* Menggunakan Sari Jeruk Afkir. *Jom Faperta*, 3(2), 1–14.
- P. Layuk, M. Lintang, dan G. H. Joseph. 2022. “Pengaruh waktu fermentasi air kelapa terhadap produksi dan kualitas *nata de coco*,” *Buletin Palma*, vol. 13(1), hal. 41–45
- Permana, Bintang, K,. 2020. Analisis Penentuan Harga Pokok Produksi Dengan Metode Full Coasting Sebagai Dasar Penetapan Harga Jual Pada CV Salwa Meubel. *Jurnal Akutansi UMMI*, 1(1)
- Pratiwi, N., Inayatul, F., Wilya, Y, P., dan Irdawati. 2021. Tinjauan Literatur : Industri Alkohol menggunakan Immobilisasi Sel. Prosiding SEMNAS BIO. Universitas Negeri Padang. Padang. 12
- Putra. I. M. E. L., Indraswarawati, S. A. P. A., Yuniasih, N. W., & Kusumawati, N. P. A. 2024. Analisis Biaya Produksi: Metode *Full Costing* Dalam Perhitungan Harga Pokok Produksi. *Jurnal Ilmiah Global Education*, 5(3), 2337-2343.
- Putranto. 2017. Penambahan Ekstrak Toge pada Media *Nata De Coco*. *Jurnal Istek*, 4, 37.
- Qazim, N. 2019. Sintesis dan Karakteristik Beads Alginat-Selulosa dari Batang Jagung dengan Variasi Senyawa Porogen, Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Rahayu, S, F. 2018. Optimasi Media Sol-Gel Untuk Imobilisasi Enzim Asetilkolinesterase Dengan Teknik Entrapment Sebagai Aplikasi Biosensor Pendeteksi Pestisida. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang : 1-123.

- Riwayati, I., Indah H dan Laeli, K. 2022. Teknologi Imobilisasi Sel Mikroorganisme Pada Produksi Enzim Lipase. Prosiding SNST. Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim Semarang.
- Riswiyanto. 2009. Kimia Organik. Erlangga. Jakarta.
- Santi Ainun Rodiah, Aditya Willy Putra, Linda Advinda, Dwi Hilda Putri. 2021. Pembuatan Nata Menggunakan Air Kelapa. Jurnal Prosiding SEMNAS BIO. Vol 01, 748-755
- Siti Mohainin Mohammad, Norliza Abd.Rahman, dan Mohd Sahaid. 2020. *An Overview of Biocellulose Production Using Acetobacter xylinum Culture*. 9-12
- Souza, Ranyere L., Emanuelle L. P. Faria, Renan T. Figueiredo, Alin T. Fricks, Gisella M. Zanin, Onélia A. A. Santos, Álvaro S. Lima, and Cleide M. F. Soares. 2014. *Use of Polyethylene Glycol in the Process of Sol-gel Encapsulation of Burkholderia Cepacia Lipase. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 117 (1) : 301-6..
- Sutrisno, A. 2017. Teknologi Enzim. UB Press. Malang
- Tetra Alfionita & Rahardian Zainul. 2016. *Calcium Chloride (CaCl₂) : Characteristics and Molecular Interaction in Solution*
- Wulandari, N. S., Pramesti, R., & Susanto, A. B. (2019). Analisis Parameter Fisika dan Kimia Karaginan *Kappaphycus alvarezii* Doty 1985 (*Florideophyceae* : Solieriaceae) Dengan Variasi Ekstraksi dari Perairan Bluto. *Journal of Marine Research*, 8(4), 409- 415.
- Y. Zhao, T. hang, D. Chen, Q. Du, P. Yu, & G. Chen. 2017. *Immobiliation of Lactobacillus plantarum Using Calcium Alginate Beads and it's Application in Fermented Food. Journal Food Hydrocolloids*, 71, 1-7
- Zenius Education. 2020. Sifat Kimia Alkali Tanah.
- Zhou Z, Li G, Li Y. 2020. *Immobilization of Saccharomyces cerevisiae alcohol dehydrogenase on hybrid alginate-chitosan beads*. *Int J Biol Macromol* 47:21–26

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Pengukuran Ketebalan Nata de coco (Novita, R., Hamzah, F., & Restuhadi, F. (2016))

Pengukuran ketebalan *Nata de coco* mengacu pada penelitian (Novita dkk., 2016) dengan menggunakan jangka sorong. *Nata de coco* ditiriskan selama 10 menit. Ketebalan diukur pada masing-masing sisi menggunakan jangka sorong. Selanjutnya, dihitung rata-rata hasil pengukurannya .

Lampiran 2. Prosedur Pengukuran Rendemen Nata de coco (AOAC International, (2016))

Pengukuran rendemen menggunakan metode AOAC (2016), yaitu nata yang dihasilkan ditimbang beratnya dan dibagi dengan berat medium lalu dikali 100%, dengan rumus sebagai berikut:

Perhitungan:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Nata}}{\text{Berat Medium}} \times 100\%$$

Lampiran 3. Prosedur Pengukuran pH (Chen, L., & Li, Q. 2021)

Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH indikator universal. Diambil kertas indikator universal, kemudian celupkan ujung kertas indikator ke dalam sampel larutan, pastikan kertas terendam sempurna tetapi hindari menyentuh dinding wadah, angkat kertas indikator dari larutan, Amati perubahan warna yang terjadi pada kertas indikator. Tunggu beberapa detik (biasanya 30-60

detik) hingga warnanya stabil, Bandingkan warna yang muncul pada kertas indikator dengan skala warna standar yang tersedia di kemasan.

Lampiran 4. Prosedur Pengukuran TSS (Wahyudi dan Dewi, 2017).

Pengukuran total padatan terlarut dilakukan dengan menggunakan *hand-refractometer*. Prisma refraktometer terlebih dahulu dibilas dengan aquades dan diseka dengan tissue, kemudian dibilas dengan alcohol 70% dan diseka dengan tissue, kemudian dibilas kembali dengan aquades dan diseka dengan tissue.. Sampel ditetaskan ke atas prisma refraktometer dan diukur derajat Brix-nya

Lampiran 5. Formulasi Pembuatan *Nata de coco* Tanpa Bantuan Sel Imobil

1. Tabel Penimbangan Medium Nata

Bahan	Berat
Air Kelapa Tua	100 ml
Gula	15 gram
<i>ZA Foodgrade</i>	1 gram
Asam Cuka	5 ml
<i>Starter Acetobacter xylinum</i>	20 ml
Total Berat Medium	141 gram

Lampiran 6. Formulasi Pembuatan *Nata de coco* Dengan Bantuan Sel Imobil

1. Tabel Penimbangan Medium

Bahan	Berat
Air Kelapa Tua	100 ml
Gula	15 gram
ZA Foodgrade	1 gram
Asam Cuka	5 ml
<i>Starter Acetobacter xylinum</i>	15 ml
Total Berat Medium	136 gram

Lampiran 7. Hasil Pengukuran pH Bahan Baku

1. Tabel Pengukuran pH Bahan Baku

Proses	pH
Kontrol	6
Fermentasi Pertama	6
Fermentasi Kedua	6

2. Tabel Pengukuran pH Bahan Baku Setelah Penambahan Asam

Proses	pH
Kontrol	4
Fermentasi Pertama	4
Fermentasi Kedua	4

Lampiran 8. Hasil Pengukuran TSS Bahan Baku

1. Tabel Pengukuran TSS Bahan Baku.

Proses	%Brix
Kontrol	4,8
Fermentasi Pertama	4,6
Fermentasi Kedua	4,8

2. Tabel Pengukuran TSS Bahan Baku Setelah Penambahan Gula

Proses	%Brix
Kontrol	5,2
Fermentasi Pertama	5,0
Fermentasi Kedua	5,4

Lampiran 9. Hasil Pengukuran Rendemen

1. Tabel Penimbangan Berat Nata

Proses	Berat Nata (gram)
Kontrol	68,6
Fermentasi Pertama	62,9
Fermentasi Kedua	61,3

2. Hasil Berat Sel Imobil

Proses	Berat Sel Imobil (gram)
Sebelum Fermentasi	5
Sesudah Fermentasi	3,8

3. Rumus Perhitungan % Rendemen

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat Nata}}{\text{Berat Medium}} \times 100\%$$

4. Hasil Perhitungan %Rendemen

Proses	%Rendemen
Kontrol	48,65 %
Fermentasi Pertama	46,25%
Fermentasi Kedua	45,07%

Lampiran 10. Hasil Pengukuran Ketebalan *Nata de coco*

Produk	Ketebalan				Rata-rata
A	0,25	0,26	0,24	0,25	0,25
B	0,24	0,23	0,23	0,23	0,23
C	0,25	0,24	0,25	0,25	0,24

Keterangan:

A: *Nata de coco* tanpa bantuan sel imobil (standar)

B: *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil pada ulangan fermentasi kedua

C: *Nata de coco* dengan bantuan sel imobil pada ulangan fermentasi pertama

Lampiran 11. Kebutuhan Bahan dan Biaya Penelitian

1. Kebutuhan Bahan

Bahan	Jumlah
Air Kelapa Tua	15 Liter
Gula	1 kg

Asam Cuka	300 ml
<i>ZA Foodgrade</i>	125 gram
Starter <i>Acetobacter xylinum</i>	5 Liter
Na-alginat	100 gram
Kalsium Klorida (CaCl_2)	250 gram

2. Kebutuhan Alat Penelitian

Alat	Jumlah
<i>Syringe</i>	20 pcs
Koran	2 pack
Karet Gelang	1 pack
<i>Thinwall</i>	20 pcs

3. Biaya Kebutuhan Penelitian

Bahan/Alat	Jumlah	Harga	Total
Air Kelapa Tua	15 Liter	Rp2.000,00/Liter	Rp30.000,00
Gula	1 kg	Rp17.500,00/kg	Rp17.500,00
Asam Cuka	300 ml	Rp6.000,00/150 ml	Rp12.000,00
<i>ZA Foodgrade</i>	125 gram	Rp26.000,00/125 gram	Rp26.000,00
Starter <i>Acetobacter xylinum</i>	5 Liter	Rp20.000,00/Liter	Rp100.000,00

Na-alginat	100 gram	Rp68.000,00/100 gram	Rp68.000,00
Kalsium Klorida (CaCl ₂)	250 gram	Rp19.000,00/250 gram	Rp19.000,00
Bahan/Alat	Jumlah	Harga	Total
<i>Syringe</i>	20 <i>pcs</i>	Rp7.000,00/ <i>pcs</i>	Rp140.000,00
Koran	2 <i>pack</i>	Rp4.000,00/ <i>pack</i>	Rp8.000,00
Karet Gelang	1 <i>pack</i>	Rp8.000,00/ <i>pack</i>	Rp8.000,00
<i>Thinwall</i>	20 <i>pcs</i>	Rp1.000,00/ <i>pcs</i>	Rp20.000,00
TOTAL		Rp448.500,00	

4. Kebutuhan Sampel Untuk Analisis

Pengujian Analisis	Kebutuhan Sampel
Pengukuran pH	3
Pengukuran TSS	3
Pengukuran Ketebalan (jangka sorong)	3
Analisis TPC	1
TOTAL	10

5. Total Biaya Analisis

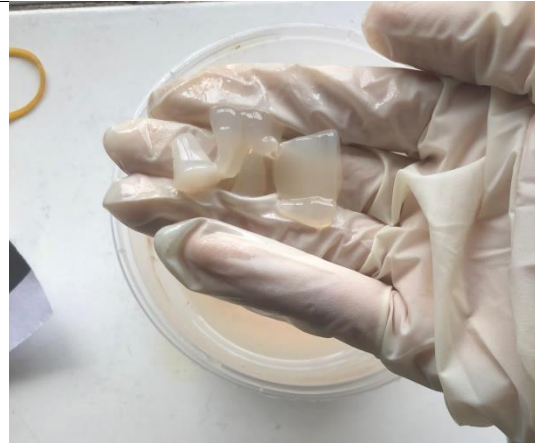
Analisis	Jumlah Perlakuan	Harga(Per Sampel)	Total
----------	------------------	-------------------	-------

Sewa Laboratorium	-	Rp250.000,00	Rp250.000,00
Pengukuran pH	3	Rp3.000,00	Rp27.000,00
Pengukuran TSS	3	Rp3.000,00	Rp27.000,00
Pengukuran Ketebalan (jangka sorong)	3	Rp3.000,00	Rp27.000,00
Analisis TPC	3	Rp25.000,00	Rp75.000,00
Total Biaya Kebutuhan			Rp406.000,00

Lampiran 12. Dokumentasi

Keterangan	Foto
Percobaan pembuatan nata de coco gagal karna terkontaminasi <i>Aspergillus Niger</i>	

Percobaan pembuatan *nata de coco*
gagal karna starter *Acetobacter*
xylinum kurang efektif



Pembuatan sel imobil



Proses homogenisasi dengan vortex



Analisis *Total Plate Count* (TPC)



Proses penyaringan bahan baku air kelapa



Pengukuran pH pada bahan baku air kelapa menggunakan Ph indicator universal



Pengukuran *Total Suspended Solids* (TSS) menggunakan *hand refractometer*



Proses Inkubasi dalam inkubator selama 8 hari pada suhu 27°C



Proses pemisahan nata dan sel
imobil

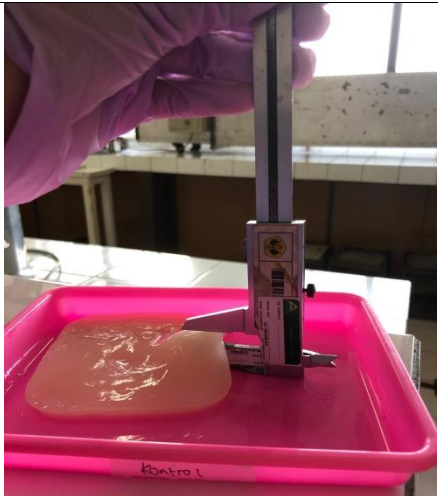


Proses penyaringan sel imobil
menggunakan kertas saring



Hasil Analisis TPC



Proses pencucian nata dengan aquades	
Proses pengukuran ketebalan nata	

Lampiran 13. Jadwal Penelitian

No	Uraian Kegiatan	Bulan							
		Januari	Februari	Maret	April	Mei	Juni	Juli	Agustus
1.	TAHAP PERSIAPAN								
	Diskusi mengenai topik penelitian								
	Studi pustaka								
2.	TAHAP BIMBINGAN								
	Penulisan Proposal Usulan Penelitian								
	Proses Bimbingan dengan Pembimbing								
3.	TAHAP PERSIAPAN SEMINAR USULAN PENELITIAN								
	Pengurusan Syarat SUP								
	Distribusi <i>Draft</i> Proposal dan Undangan SUP								
	PELAKSANAAN SUP								
4.	Pelaksanaan Penelitian								
5.	Pengolahan Data								
6.	Sidang Akhir								
	Pengurusan Syarat Sidang TA								
	Distribusi <i>Draft</i> TA dan Undangan Sidang TA								
	PELAKSANAAN Sidang TA								