

Laporan Penelitian

Kadar Alkohol, Nitrogen, Fosfat dan Kalium pada Fermentasi Produk Samping Keju Feta dengan Variasi Konsentrasi *Kluyveromyces lactis*

Gemilang Lara Utama¹, Roostita Lobo Balia^{1,2†}, Tubagus Benito Achmad Kurnani^{1,2}, Sunardi²

¹Program Pasca Sarjana Ilmu Lingkungan, Universitas Padjajaran, Bandung

²Fakultas Peternakan, Universitas Padjajaran, Bandung

†Korespondensi dengan penulis (roostita@gmail.com)

Artikel ini dikirim pada tanggal 7 Januari 2014 dan dinyatakan diterima tanggal 23 Maret 2014.

Artikel ini juga dipublikasi secara online melalui www.journal.ift.or.id

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang diperbanyak untuk tujuan komersial.

Diproduksi oleh Indonesian Food Technologists® ©2014 (www.ift.or.id)

Abstrak

Keju *feta* merupakan salah satu keju keras yang dibuat dengan bahan baku susu kambing, domba atau sekali-kali dicampur dengan susu sapi atau susu kerbau. Unikinya bahan baku yang digunakan menghasilkan whey dengan komposisi yang berbeda. Hal tersebut menjadi suatu potensi yang dapat dimanfaatkan, terutama dalam produksi salah satu metabolit penting dalam fermentasi seperti alkohol dan pupuk organik cair alternatif yang berasal dari sisa distilasi. Penggunaan konsentrasi starter yang tepat dalam proses tersebut selama ini belum begitu banyak diungkap. Untuk itu penelitian dilakukan untuk mengetahui bagaimana variasi konsentrasi *Kluyveromyces lactis* mempengaruhi kadar alkohol, serta menghasilkan komposisi Nitrogen (N), Fosfat (P) dan Kalium (K) yang tepat pada sisa distilasi untuk dipergunakan sebagai pupuk organik cair alternatif. Penelitian dilakukan secara eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan variasi konsentrasi *K.lactis* (5%, 7,5%, 10% v/v) diberikan sebagai perlakuan. Hasil menunjukkan bahwa penambahan konsentrasi *K.lactis* sebanyak 7,5% v/v menghasilkan kadar alkohol terbaik yaitu 1,21% dengan Kadar N 0,123%, P 0,057% dan K 0,111%.

Kata kunci: Whey Feta, Alkohol, Nitrogen, Fosfat, Kalium.

Pendahuluan

Whey yang dihasilkan dari proses pembuatan keju akan bergantung pada jenis keju yang diproduksi. *Feta* merupakan jenis keju keras, whey yang berasal dari keju *feta* memiliki kadar protein yang tinggi dan kadar lemak yang rendah. Selain protein dan lemak, whey memiliki laktosa yang berpotensi untuk dimanfaatkan oleh mikroorganisme dalam menghasilkan produk lain, diantaranya yaitu alkohol.

Khamir merupakan jenis mikroorganisme yang paling efektif dalam menghasilkan alkohol. Namun tidak semua khamir memiliki aktivitas laktase yang baik, sehingga laktosa tidak dapat terdegradasi seutuhnya sehingga pembentukan alkohol menjadi rendah. *Kluyveromyces lactis* merupakan jenis khamir dengan aktivitas laktase yang baik dan mampu mensintesis laktosa menjadi alkohol.

Selain itu, *K.lactis* memiliki aktivitas proteolitik yang dapat mendegradasi protein menjadi asam amino dan peptida untuk dimanfaatkan dalam metabolisme. *Kluyveromyces lactis* juga dapat merombak sedikit gliserol yang berasal dari degradasi lemak hingga menjadi alkohol. Oleh karena itu, *Kluyveromyces lactis* berpotensi sebagai starter dalam fermentasi whey feta dalam menghasilkan alkohol.

Alkohol dengan kemurnian yang diharapkan dapat dihasilkan melalui distilasi. Selain memisahkan alkohol dari air di dalam whey, panas distilasi juga dapat memicu autolisis pada khamir sehingga khamir tidak lagi aktif. Proses distilasi ini masih menyisakan cairan yang biasanya dibuang, di sisi lain sisa distilasi yang dihasilkan memiliki volume, komposisi dan potensi pemanfaatan yang cukup besar. Asam amino, peptida, serta berbagai mineral masih terkandung dalam sisa distilasi. Jumlah N dan mineral seperti Fosfat dan

Kalium sangat dibutuhkan oleh tumbuhan untuk dapat tumbuh dengan baik. Kandungan N, P dan K pada sisa distilasi dapat dijadikan dasar penggunaannya sebagai pupuk organik cair alternatif.

Hingga saat ini penggunaan *K.lactis* sebagai starter dalam fermentasi alkohol masih terbatas. Konsentrasi *K.lactis* yang tepat diharapkan dapat menghasilkan kadar alkohol terbaik dengan sisa distilasi berkadar N, P, K baik sehingga dapat digunakan sebagai pupuk organik cair alternatif.

Materi Dan Metode

Materi

Whey Feta berasal dari PT. Yummy Food Utama dengan komposisi Laktosa 4,64%, Lemak 2,19 %, Protein 0,79%, Abu 0,073 %, Serat Kasar 0,011% dan Air 92,29%. *Kluyveromyces lactis* dalam *Glucose Yeast Extract Agar* (GYEA) miring didapatkan dari Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Metode

Bahan baku dibawa dari PT. Yummy Food Utama dengan menggunakan kontainer plastik dengan suhu <4°C. Sesampainya di laboratorium, Whey dipanaskan pada suhu 90°C selama 15 menit lalu dibiarkan dingin dalam ruangan steril hingga mencapai suhu 30°C. Biakan *K.lactis* yang telah dipropagasi ke dalam *Glucose Yeast Extract Broth* (GYEB) diinokulasikan sesuai perlakuan (5%, 7,5% dan 10% v/v). Whey yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam, lalu dilakukan satu kali distilasi serta pengukuran kadar alkohol dengan metode piknometer, Nitrogen dengan metode Kjeldahl, P₂O₅ dengan metode Bray I dan Kalium dengan *Atomic Absorption Spectrophotometry* (AAS).

Analisa Data

Data hasil penelitian dianalisis dengan bantuan *software* SPSS 18 menggunakan *Analisis of Varian* (ANOVA) dan Tukey sebagai uji lanjut.

Hasil dan Pembahasan

Pengaruh Variasi Konsentrasi *K.lactis* terhadap Kadar Alkohol

Hasil pada Tabel 1 menunjukkan rerata kadar alkohol tertinggi yaitu 1,21% dihasilkan oleh penambahan konsentrasi *K.lactis* 7,5%. Sementara itu, kadar alkohol terendah (0,91%) dihasilkan dari perlakuan penambahan *K.lactis* dengan konsentrasi 5%. Analisis sidik ragam menyatakan bahwa perbedaan konsentrasi *K.lactis* memberikan pengaruh nyata terhadap kadar alkohol.

Alkohol dihasilkan melalui fermentasi bertahap, pada tahap awal laktosa di-hidrolisis menjadi glukosa dan galaktosa dengan bantuan enzim laktase (Parrondo, *et al.*, 2009). Setelah tahapan hidrolisis, kedua monosakarida dirombak melalui jalur glikolisis hingga dihasilkan asam piruvat (Flores, *et al.*, 2000). Asam piruvat merupakan percabangan penting dalam jalur metabolisme *K.lactis*, karena asam piruvat inilah yang digunakan untuk produksi alkohol ataukah dipergunakan untuk respirasi.

Seperti diungkapkan oleh Breunig and Steensma (2003), untuk menghasilkan alkohol *K.lactis* harus memproduksi piruvat dekarboksilase agar asam piruvat dapat dirombak menjadi asetaldehid sehingga pada akhirnya asetaldehid dapat dirombak menjadi bioetanol dengan bantuan enzim alkohol dehidrogenase. Namun, pada saat substrat memiliki glukosa yang rendah dan oksigen yang terbatas, respirasi akan mendominasi jalur metabolisme *K.lactis* (*crabtree negative*) dan menyebabkan rendahnya produksi alkohol.

Selain itu, semakin tinggi jumlah *K.lactis* yang ditambahkan akan semakin meningkatkan persaingan *K.lactis* dalam memanfaatkan glukosa sehingga glukosa yang tersedia akan habis dipergunakan hanya untuk respirasi, hal ini berimbas pada rendahnya alkohol yang dihasilkan (Mahmoud and Kosikowski, 1982). Hal ini diperkuat Ramakrishnan and Hartley (1993) yang menyebutkan bahwa dalam 24 jam pertama *K.lactis* hanya dapat memanfaatkan glukosa dan setelah itu baru akan merombak galaktosa untuk pembentukan alkohol.

Selain ketersediaan sumber karbon bagi *K.lactis*, berbagai komponen mikro seperti asam-asam amino, vitamin dan mineral juga memberikan peranan penting dalam membantu metabolisme dan produksi alkohol.

Asam-asam amino dapat diperoleh dari protein yang dirombak melalui aktivitas protease yang dimiliki oleh *K.lactis* (Zeeman, *et al.*, 1999). Rendahnya ketersediaan berbagai unsur mikro ini akan menimbulkan terganggunya jalur metabolisme sehingga alkohol yang dihasilkan tidak dapat tercapai secara optimal (Parrondo, *et al.*, 2009).

Pengaruh Variasi Konsentrasi *K.lactis* terhadap Kadar Nitrogen

Rerata kadar N tertinggi yaitu 0,127% dihasilkan oleh penambahan konsentrasi *K.lactis* 10%. Hasil tersebut berbeda tidak nyata dengan kadar N lainnya yang dihasilkan oleh konsentrasi *K.lactis* 7,5% (0,123%) dan 5% (0,120%). *Kluyveromyces lactis* dapat memanfaatkan asam-asam amino yang berasal dari protein di dalam whey sebagai sumber N utama bagi metabolisme tubuhnya (Rutherford dan Moughan, 1998). Aktivitas protease ekstraseluler yang dimiliki oleh *Kluyveromyces lactis* mengakibatkan asam-asam amino tersebut terdegradasi bersama peptida-peptida (Walker, 1998).

Pemanfaatan N yang berasal dari asam amino dan peptida dilakukan oleh *Kluyveromyces lactis* untuk membantu pertumbuhan (Messenguy, *et al.*, 2006). Nitrogen yang dimanfaatkan oleh *Kluyveromyces lactis* disimpan di dalam sel dan mencapai kurang lebih 10% dari berat kering sel khamir (Walker, 1998). Hal ini berpengaruh pada jumlah N yang terdeteksi oleh metode kjedahl, dimana sejumlah N yang tersimpan dalam sel khamir juga ikut terhitung pada saat analisis. Hasil pada Tabel 1 mencerminkan seiring dengan peningkatan konsentrasi *K.lactis*, ada peningkatan kadar N yang terjadi walaupun setelah dibandingkan perbedaan tersebut tidak nyata.

Pengaruh Variasi Konsentrasi *K.lactis* terhadap Kadar Fosfat (P₂O₅)

Hasil ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi *K.lactis* memberikan pengaruh nyata pada kadar Fosfat. Kadar Fosfat tertinggi (0,059%) dihasilkan dengan penambahan *K.lactis* dengan konsentrasi 5%, tapi berbeda tidak nyata dengan konsentrasi 7,5% yang menghasilkan Fosfat 0,057% dan berbeda nyata dengan kadar Fosfat terendah (0,049%) yang dihasilkan konsentrasi 10%.

Fosfor dalam bentuk asam nukleat dan fosfolipid yang terkandung di dalam whey merupakan nutrisi esensial yang dibutuhkan oleh *K.lactis* untuk membantu pertumbuhan (Parrondo, *et al.*, 2009; Walker, 1998). Theobald, *et al.* (1996) menyatakan bahwa *K.lactis*

Tabel 1. Rerata Kadar Alkohol, Nitrogen, Fosfat dan Kalium pada Fermentasi Feta Whey dengan Variasi Konsentrasi *Kluyveromyces lactis*

Konsentrasi	Alkohol (%)	Nitrogen (%)	Fosfat (%)	Kalium (%)
5%	0,91 ^b	0,120 ^a	0,059 ^a	0,127 ^a
7,5%	1,21 ^a	0,123 ^a	0,057 ^a	0,111 ^c
10%	0,95 ^b	0,127 ^a	0,049 ^b	0,116 ^b

Keterangan: superskrip abcd pada baris yang berbeda kolom yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang nyata (P<0,05)

memanfaatkan fosfor lalu menyimpannya di dalam sel dalam bentuk *orthophosphate* (H_2PO_4). Sementara itu, analisis yang dilakukan hanya dapat mendeteksi P_2O_5 . Hal ini diduga mengakibatkan fosfat intraseluler dalam bentuk H_2PO_4 yang terdapat dalam sel khamir tidak ikut terdeteksi. Oleh karena itu, tingginya konsentrasi *K.lactis* akan mengakibatkan tingginya jumlah fosfat yang dimanfaatkan dan disimpan dalam bentuk H_2PO_4 oleh *K.lactis* sehingga P_2O_5 yang terdeteksi di dalam sisa distilasi semakin menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi *K.lactis*.

Pengaruh Variasi Konsentrasi *K.lactis* terhadap Kadar Kalium

Penambahan *K.lactis* dengan konsentrasi 5% menghasilkan kadar Kalium tertinggi (0,127%), sementara itu kadar Kalium terendah (0,111%) dihasilkan konsentrasi 7,5%. Hasil ANOVA menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi *K.lactis* berpengaruh nyata pada kadar Kalium.

Kalium merupakan salah satu jenis mineral yang dibutuhkan oleh khamir. Walker (1998) menyebutkan bahwa Kalium merupakan makroelemen yang dibutuhkan khamir sebagai kofaktor dari berbagai enzim yang terlibat dalam fosforilasi oksidatif, biosintesis protein dan metabolisme karbohidrat. Pada khamir yang abnormal, peran Kalium dalam metabolisme khamir terkadang digantikan oleh Magnesium atau Natrium, namun akan menyebabkan lambatnya laju fermentasi (Spencer, *et al.*, 1997).

Perlakuan penambahan konsentrasi *K.lactis* sebanyak 7,5% dihasilkan kadar alkohol terbaik yang berarti dapat diasumsikan bahwa fermentasi berjalan dengan baik sehingga dapat diduga pemanfaatan Kalium sebagai kofaktor dalam metabolisme juga berjalan dengan normal. Oleh karena itu dapat kita lihat pada Tabel 1, perlakuan dengan hasil kadar alkohol yang tinggi akan memiliki kadar Kalium yang rendah dan sebaliknya pada perlakuan dengan kadar alkohol rendah akan terdapat kadar Kalium yang tinggi.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Variasi konsentrasi *K.lactis* pada fermentasi whey feta menunjukkan pengaruh yang nyata pada kadar alkohol, Fosfat dan Kalium, namun berpengaruh tidak nyata untuk kadar Nitrogen. Konsentrasi *K.lactis* 7,5% pada fermentasi whey feta dengan suhu 30°C selama 24 jam memberikan kadar alkohol terbaik hingga 1,21% dengan Kadar N 0,123%, P 0,057% dan K 0,111%.

Saran

Sebaiknya dilakukan optimisasi pada proses fermentasi maupun distilasi sehingga kadar alkohol yang dihasilkan dapat lebih ditingkatkan.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT.

Yummy Food Utama atas penyediaan bahan baku sehingga penelitian ini dapat terlaksana. Begitu juga kepada Beasiswa Unggulan BPKLN Kemendikbud atas Beasiswa yang telah diberikan sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian serta studi lanjut yang dijalankan.

Daftar Pustaka

- Breunig, K.D. and Yde Steensma, H. 2003. *Kluyveromyces lactis* : Genetics, Physiology and Application. Dalam J.H. de Winde (Ed.). *Functional Genetics of Industrial Yeasts*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Flores, C.L., Rodriguez, C., Petit, T. and Gancedo C. 2000. Carbohydrate and Energy-Yielding Metabolism in Non-Conventional Yeasts. *FEMS Microbiology Rev.* 24:507-529.
- Mahmoud, M. M. and Kosikowski, F.V. 1982. Alcohol and Single Cell Protein Production by *Kluyveromyces* in Concentrated Whey Permeates with Reduced Ash. *J. Dairy Sci.*, 65:2082-2087.
- Messenguy, F., Andre, B. and Dubois, E. 2006. Diversity of Nitrogen Metabolism Among Yeast Species : Regulatory and Evolutionary Aspects. Dalam Rosa, C. and Gabor, P. (Ed.). *Biodiversity and Ecophysiology of Yeasts*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Parrondo, J. L., A. García, and M. Díaz. 2009. Nutrient Balance and Metabolic Analysis in a *Kluyveromyces Marxianus* Fermentation With Lactose-Added Whey. *Brazilian J. of Chem. Engineering.* 26(03): 445 – 456.
- Ramakrishnan, S. and Hartley, B.S. 1993. Fermentation of Lactose by Yeast Cells Secreting Recombinant Fungal Lactase. *Journal of Applied and Environmental Microbiology.* 59 (12) : 4230 – 4235.
- Rutherford, S.M. and Moughan, P.J. 1998. The Digestible Amino Acid Composition of Several Milk Proteins: Application of a New Bioassay. *J. Dairy Sci.* 81:909–917.
- Spencer, J.F.T., Spencer, D.M. and Figueroa, L.I.C. 1997. Yeasts as Living Objects: Yeast Nutrition. Dalam Spencer, J.F.T. and Spencer, D.M. (Ed.). *Yeasts : In Natural and Artificial Habitats*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Theobald, U., Mohns, J. And Rizzi, M. 1996. Determination of In Vivo Cytoplasmic Orthophosphate Concentration in Yeast. *Biotechnology Techniques.* 10(2) : 297-302.
- Walker, G.M. 1998. *Yeast Physiology and Biotechnology*. John Wiley and Sons Ltd.
- Zeeman, A.M., Luttik, M.A.H., Pronk. J.T., Van Dijken, J.P., Steensma, H.Y. 1999. Impaired Growth on Glucose of a Pyruvate Dehydrogenase-Negative Mutant of *Kluyveromyces lactis* in Due to Limitation in Mitochondrial Acetyl-Coenzym A Uptake. *FEMS Microbiol Lett.* 177:23-28.