

PEMANFAATAN SAGU SEBAGAI BAHAN PEMBAWA (CARRIER) PADA KRISTALISASI *GLUCONANO ACETOBACTER*

Harianingsih^{1*}, Claudya Harliyanto²

¹ Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim
Jl. Menoreh Tengah X/22, Sampangan, Semarang 50236.

² Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Sebelas Maret
Jl. Kentingan No. 36 A Surakarta.

*Email: harianingsih@unwahas.ac.id

Abstrak

Bahan pembawa (carrier) merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan dalam proses kristalisasi *Gluconano acetobacter*. Inokulum *Gluconano acetobacter* biasanya tersedia dalam bentuk cair dalam kemasan botol Gelas. Kristalisasi bertujuan untuk menjaga keberlanjutan proses inokulasi *Gluconano acetobacter* untuk menghasilkan produk-produk selulosa. Bahan pembawa yang digunakan adalah sagu yang mempunyai karakteristik dapat menahan air, tidak toksik terhadap mikrobial, dan tentu saja tidak mencemari lingkungan. Pada penelitian ini diuji pengaruh konsentrasi (10%, 20%, 30%) dan volume (3ml, 6ml, 9ml) penambahan bahan pembawa sagu terhadap populasi sel hidup pada inokulasi kristalisasi *Gluconano acetobacter*. Populasi sel hidup terbanyak $4,4 \times 10^6$, prosentase kehilangan air terbesar yang dicapai 9,3 % dan kadar berat kering selulosa terbesar 23,45% terdapat pada *Gluconano acetobacter* dengan konsentrasi bahan pembawa sagu 30% dan volume yang ditambahkan 9 ml.

Kata kunci: carrier, *gluconano acetobacter*, selulosa

PENDAHULUAN

Gluconano acetobacter adalah bakteri gram negatif yang sangat baik digunakan untuk memproduksi selulosa. Barisan pori yang dihasilkan dari ekskresi *Gluconano acetobacter* secara khusus menghasilkan mikrokristal dari rantai glukana yang selanjutnya bergabung menjadi mikrofibril (Dewi Pramesti, 2004). Gabungan mikrofibril menghasilkan struktur berupa benang-benang halus. Benang yang terbentuk pada pengamatan menggunakan mikroskop cahaya menunjukkan suatu selulosa. *Gluconano acetobacter* adalah bakteri yang terlibat dalam biosintesa selulosa. Selulosa bakteri adalah sebuah eksopolisakarida yang dihasilkan oleh bakteri berupa homopolimer molekul β -D-1,4 glukosa dengan ikatan beta-glikosidik. Selulosa ini memiliki struktur dan sifat fisik yang unik (kekuatan tarik mekanik, porositas tinggi) dengan kemurnian lebih tinggi bila dibandingkan dengan selulosa dari tanaman (Ifadah, 2016). Oleh karena sifat tersebut selulosa bakteri banyak diaplikasikan diberbagai bidang diantaranya digunakan sebagai bahan baku pembuatan akustik diaphragma, kertas kualitas tinggi dan membran khusus. Selain itu dibidang medis selulosa bakteri dapat digunakan sebagai

bahan untuk pembuatan kulit buatan, dan pembuluh darah buatan, hal ini karena selulosa bakteri memiliki sifat yang menyerupai hidrogel, memiliki daya serap yang baik, bersifat nonalergenik dan karakteristiknya mirip kulit manusia. Satu sel *Gluconano acetobacter* dapat mempolimerisasi lebih dari 200.000 residu glukosa per detik ke dalam rantai β -1,4 glukana (Hungund dan Gupta, 2010). Enzim selulosa sintase pada *Gluconano acetobacter* berada pada membran sitoplasma dan produk selulosa diperoleh ekstraselular. *Gluconano acetobacter* yang tersedia selama ini adalah dalam bentuk cair dalam kemasan botol gelas. Kultur dalam keadaan cair mudah mengalami kontaminasi, mudah turun potensinya pada penyimpanan, dan sulit dalam pengelolaannya. Dalam menjaga keberlanjutan proses produksi produk fermentasi dibutuhkan starter kultur mikrobial yang tersedia secara terus menerus dalam keadaan siap pakai, dengan potensi yang maksimal, mudah dikelola dan dapat disimpan lama dengan aktivitas produksi yang tetap tinggi. Kultur yang disimpan diharapkan dalam keadaan stabil dalam arti tidak mengalami mutasi genetik sehingga kualitas produk terjaga baik.

Beberapa penelitian telah dilakukan di Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI terhadap *Acetobacter* sp. RMG-2, *Acetobacter* sp. EMN-1 dan *A. xylinum* sebagai inokulum cair nata de coco untuk produksi selulosa (Melliawati, 2008). Penelitian yang telah dilakukan Melliawati termasuk membuat inokulum pasta menggunakan bahan pembawa carboxy methyl cellulose. Bahan pembawa adalah medium yang digunakan untuk melindungi sel selama proses kristalisasi. Bahan pembawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah pati sagu. Bahan ini mempunyai daya ikat atau menjadi kental apabila dilarutkan dalam air hangat/panas, kecuali bubur bioselulosa.

Menurut Dewi Pramesti (2009) bahan pembawa harus mempunyai karakteristik mempunyai kemampuan menahan air, tidak toksik terhadap mikrobia, mendukung pertumbuhan mikrobia, secara umum steril atau mudah disterilkan, bahan mudah diperoleh dengan harga murah, mempunyai daya lekat terhadap benih, secara kimiawi mempunyai komposisi yang seragam, mudah dididegradasi, tidak mencemari lingkungan, mudah melepaskan mikrobia jika digunakan di tanah, mudah dicampur dan dikemas. Penelitian ini bertujuan untuk menguji pengaruh konsentrasi dan volume penambahan bahan pembawa sagu terhadap populasi sel hidup pada proses inokulasi kristalisasi *Gluconano acetobacter*.

METODOLOGI

Bahan :

Kultur cair *Gluconano* yang berasal dari nanas, Aluminium sulfat, asam asetat glasial, sukrosa, air, aquades, NaOH 0,1%.

Alat yang digunakan :

Alat-alat gelas (petridish, tabung reaksi), autoklaf, *centrifuge*, timbangan analitik, *dryer*, inkubator, pH meter, *cuebec colony counter*, dan alat-alat untuk isolasi (ose, driglaski, mikropipet, tip), oven.

Prosedur Penelitian :

Pembuatan Kultur cair *Gluconano acetobacter*

Kultur cair ini diperoleh dengan cara mencampur ampas nanas, air, sukrosa dengan perbandingan : 2:2:1. Setelah diinkubasi selama 7 hari akan terjadi dua lapisan, ambil

lapisan atas merupakan kultur *Gluconano acetobacter*.

Kristalisasi *Gluconano acetobacter*

Kultur cair disentrifuge pada kecepatan 3500rpm, kemudian tambahkan bahan pembawa sagu dengan konsentrasi 10,20,30 % (gr/100ml) dan volume 3,6,9 ml. Campuran selanjutnya dibekukan selama 12 jam kemudian dikeringkan menggunakan *dryer* hingga terbentuk kristal *Gluconano acetobacter*.

Pengujian populasi sel hidup

Pengujian populasi sel hidup pada penelitian ini menggunakan metode spread plate. Kristal *Gluconano acetobacter* direaktivasi dengan didiamkan selama 30 menit, diambil 1 ml, kemudian dilakukan pengenceran menggunakan aquades hingga 10^{-5} . Sampel ditanam dalam medium agar padat dan diinkubasi selama 24 jam. Populasi sel hidup adalah jumlah sel hidup dibagi faktor pengenceran yang dipakai.

Pengujian Kehilangan Air

Kristal *Gluconano acetobacter* ditimbang seberat 2 g lalu dimasukkan kedalam cawan yang telah diketahui beratnya. Kemudian dikeringkan dalam oven suhu 105°C selama 3 jam. Selanjutnya didinginkan dalam desikator selama 20 menit, kemudian ditimbang. Perlakuan ini diulang hingga mencapai berat konstan (selisih penimbangan ≤ 0.02 mg) dan dihitung selisih berat konstan (kehilangan airnya).

Pengujian Berat Kering Selulosa

Inokulum *Gluconano acetobacter* dalam bentuk pasta diuji juga untuk mengetahui kemampuannya dalam memproduksi selulosa menggunakan botol skott berisi 100 mL medium dan dalam baki berisi 1000 mL medium masing-masing dilakukan dua ulangan, selanjutnya diinkubasikan selama 7 hari. Pemanenan dilakukan untuk melihat tebal dan berat selulosa yang terbentuk. Dilanjutkan pengeringan terhadap selulosa setelah dilakukan pencucian dan perendaman lebih dulu dalam larutan NaOH 0,1% selama 24 jam. Pengeringan dilakukan menggunakan oven 60-70°C selama 2-3 hari, lalu ditimbang untuk mengetahui berat kering selulosa tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi Sel Hidup

Data populasi sel hidup penambahan bahan pembawa sagu pada kristalisasi Gluconano acetobacter masing-masing perlakuan penelitian dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Populasi sel hidup

Konsentrasi(%)	Volume(ml)	Jumlah sel hidup
10	3	$2,1 \times 10^6$
	6	$2,6 \times 10^6$
	9	$2,3 \times 10^6$
20	3	$3,4 \times 10^6$
	6	$2,9 \times 10^6$
	9	$3,7 \times 10^6$
30	3	$3,8 \times 10^6$
	6	$4,1 \times 10^6$
	9	$4,4 \times 10^6$

Populasi terbanyak $4,4 \times 10^6$ terdapat pada Gluconano acetobacter dengan konsentrasi bahan pembawa sagu 30% dan volume yang ditambahkan 9 ml. Semakin besar konsentrasi dan volume bahan pembawa sagu yang ditambahkan semakin besar kemampuan acetobacter mensintesis bahan nutrisi di dalam medium. Sagu memberikan perlindungan pada sel-sel acetobacter yang telah dikristalisasi sehingga dapat bertahan hidup. Peran sagu menggantikan komponen air yang menyusun membran acetobacter setelah proses penghilangan air.

Kehilangan Air (%)

Persentase hilangnya air dari Gluconano acetobacter disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Kehilangan Air (%) Kristalisasi Gluconano acetobacter

Konsentrasi(%)	Volume(ml)	Kehilangan Air (%)
10	3	5,6
	6	6,1
	9	6,4
20	3	6,7
	6	7,1
	9	7,7
30	3	8,7
	6	9,1
	9	9,3

Prosentase kehilangan air yang dicapai 9,3 % mengindikasikan bahwa proses kristalisasi menggunakan bahan pembawa sagu memberikan produk yang lebih kering, ringan dan porous. Sifat ini mendukung harapan bahwa Gluconano acetobacter dalam bentuk cair dapat diubah menjadi bentuk kultur yang kering, mudah disimpan dan didistribusikan. Gluconano acetobacter dalam bentuk kering juga tidak membutuhkan temperatur rendah selama penyimpanan dan distribusi sehingga lebih ekonomis. Bahan yang lebih kering dan porous akan lebih mudah mengalami rehidrasi kembali (Costa et al, 2000). Proses rehidrasi yang lebih mudah dan cepat dapat memberikan proses perbaikan kembali sel – sel yang telah mengalami pengeringan, sehingga metabolisme kembali normal dan sel tidak mengalami kerusakan lebih lanjut.

Berat Kering Selulosa

Prosentase berat kering selulosa yang dihasilkan dari proses inokulasi Gluconano acetobacter dengan bahan pembawa sagu dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Berat Kering Selulosa

Konsentrasi(%)	Volume(ml)	Berat Kering Selulosa (%)
10	3	17,10
	6	18,33
	9	18,98
20	3	19,00
	6	19,34
	9	21,55
30	3	22,67
	6	23,14
	9	23,45

Kadar berat kering selulosa terbesar 23,45% terdapat pada kristal Gluconano acetobacter dengan bahan pembawa sagu yang mempunyai konsentrasi 30% dan volume penambahan 9 ml. Pada kondisi ini menggambarkan kemampuan bahan pembawa sagu menyimpan bakteri dengan aman dan tidak kehilangan potensinya dalam membentuk selulosa. Populasi bakteri dan produksi selulosa berhubungan erat dengan medium dan kemampuan bakteri mensintesis bahan nutrisi yang ada di dalam medium

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Populasi terbanyak $4,4 \times 10^{-6}$ terdapat pada Gluconano acetobacter dengan konsentrasi bahan pembawa sagu 30% dan volume yang ditambahkan 9 ml.
2. Prosentase kehilangan air yang dicapai 9,3 % mengindikasikan bahwa proses krstalisasi menggunakan bahan pembawa sagu memberikan produk yang lebih kering, ringan dan porous.
3. Kadar berat kering selulosa terbesar 23,45%.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan bahan pembawa jenis lain, agar dapat dibandingkan perbedaannya dan memperoleh Gluconano acetobacter dengan bahan pembawa yang terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Costa E. (2000). *Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of Pantoea agglomerans strain CPA-2 subjected to freeze drying*. *Journal of Applied Microbiology* pp:793-800.
- Dewi, Pramesti. (2009). *Ketahanan Hidup Sel Acetobacter xylinum pada Pengawetan secara Kering Beku Menggunakan Medium Pembawa*. *Jurnal Biosaintifika*. Pp. 41-48.
- Dewi, Pramesti. (2004). *Starter Nata Kering-Beku : Prospek dan Potensinya pada Pembuatan Nata de Radia*. *Jurnal Biosaintifika*. Pp. 23-29.
- Hungund, B.S. and Gupta, S.G. (2010). *Strain Improvement of Gluconacetobacter xylinus NCIM 2526 for Bacterial Cellose Production*. *African J. of Biotechnology* 32:9, 5170-5172
- Ifadah, Raida Amelia. (2016). *Strain Improvement Acetobacter xylinum Menggunakan Ethyl Methane Sulfonate (EMS) sebagai Upaya Peningkatan Produksi Selulosa Bakteri*. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. Pp.273-282
- Melliawati, Ruth. (2008). *Kajian Bahan Pembawa untuk Meningkatkan Inokulum Pasta Nata de coco*. *Jurnal Biodiversitas*. pp.255-258.