

ANALISIS KARBOKSIMETIL SELULOSA DARI BAKTERI *Acetobacter xylinum* DAN *Acetobacter* sp. RMG-2* [Analysis of Carboxymethyl Cellulose from *Acetobacter xylinum* and *Acetobacter* sp. RMG-2 Bacteria]

Ruth Melliawati✉ dan Apridah Cameliawati Djohan

Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI, Jln Raya Bogor KM 46 Cibinong 16911

E-mail: ruthmell2000@yahoo.com

ABSTRACT

Bacterial cellulose has long been manufactured and used for industrial purposes and health. Bacterial cellulose more profitable than the cellulose plants because during the manufacturing process, they do not harm the environment. The purpose of this study was to identify differences of cellulose produced by *Acetobacter xylinum* and *Acetobacter* sp. RMG-2 from that produced by plants. The study was also aimed to determine superiority of carboxymethyl cellulose (CMC) produced by those bacteria. The medium HB was prepared for the production of cellulose from both bacteria. Bacterial cellulose preparation was carried out to obtain solid fine powder, followed by manufacturing carboxymethyl cellulose through several stages to obtain CMC powder. CMC analysis was performed for both bacteria and plants targeted on the surface structure of cellulose, the density of solids, viscosity CMC and functional groups. As a result, the surface fiber cellulose plants had a wider space than fiber cellulose bacterium. The density of solids of CMC *A. xylinum*, *A. sp. RMG-2* and plant were 3.09998 g/cm³, 0.0079 g/cm³ and 0.9978 g/cm³ respectively. Viscosity of the CMC were of 5.78 cP, 5.25 cP and 5.91 cP for each *A. xylinum*, *A. sp. RMG-2* and plant. CMC functional groups of bacteria has met the parameters of success as indicated by the infrared spectrum since it formed a methyl group, carboxyl group and the group of sugar. Cellulose *Acetobacter* sp. RMG-2 and *A. xylinum* cellulose can replace plants through the process of compound alkalization with sodium hydroxide, because the compound can lower the level of density of pores of cellulose fibers. The CMC resulting from bacterial cellulose as good as CMC plant and had characteristics resembling CMC plant.

Key words: *Acetobacter* sp. RMG-2, *A. xylinum*, HB medium, carboxymethyl cellulose

ABSTRAK

Selulosa bakteri telah lama diproduksi dan digunakan untuk keperluan industri dan kesehatan. Selulosa bakteri lebih menguntungkan dari pada selulosa tanaman karena dalam proses pembuatannya tidak merusak lingkungan. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat perbedaan selulosa yang dihasilkan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 dengan selulosa tanaman serta untuk mengetahui keunggulan karboksimetil selulose yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Medium HB disiapkan untuk pembuatan selulosa bakteri dari kedua bakteri tersebut. Preparasi selulosa dilakukan untuk memperoleh serbuk padatan yang halus, kemudian dilanjutkan dengan pembuatan karboksimetil selulose (CMC) melalui beberapa tahapan sehingga diperoleh serbuk CMC. Analisis CMC dilakukan pada kedua bakteri dan tanaman yaitu terhadap struktur permukaan selulosa, kerapatan padatan, viskositas CMC dan gugus fungsi. Hasilnya, serat permukaan selulosa bakteri mempunyai ruang lebih sempit dari pada serat selulosa tanaman. Kerapatan padatan CMC dari *A. xylinum*, *A. sp. RMG-2* dan dari tanaman masing masing diperoleh 0,99998 g/cm³, 0,0079 g/cm³ dan 0,9978 g/cm³. Untuk viskositas CMC yaitu 5,78 cP, 5,25 cP dan 5,91 cP. Gugus fungsi CMC bakteri memenuhi parameter keberhasilan karena terlihat melalui spektrum infra merah telah terbentuk gugus metil, gugus karboksil dan gugus gula. Selulosa *Acetobacter* sp. RMG-2 dan *A. xylinum* dapat menggantikan selulosa tanaman melalui proses alkalisasi dengan senyawa Natrium hidroksida, karena senyawa tersebut dapat menurunkan tingkat kerapatan pori-pori serat selulosa. CMC yang dihasilkan dari selulosa bakteri sama baiknya dengan CMC tanaman dan mempunyai karakteristik menyerupai CMC tanaman.

Kata kunci: *Acetobacter* sp. RMG-2, *A. xylinum*, medium HB, karboksimetil selulose (CMC)

PENDAHULUAN

Ilmu dan teknologi semakin berkembang, sejalan dengan meningkatnya kemampuan manusia dalam mengekspresikan kondisi lingkungan yang ditempatinya, seperti halnya selulosa yang awalnya diambil dari tanaman, namun sejak beberapa tahun yang lalu bakteri mampu menghasilkan selulosa dengan kualitas yang sama bahkan lebih menguntungkan. Selulosa adalah komponen penyusun terbesar dalam kapas (lebih dari 94%) dan kayu (lebih dari 50%). Kapas dan kayu dapat menghasilkan produk turunan selulosa seperti rayon,

selofan, selulosa asetat, kertas, tekstil dan bahan konstruksi (Brown *et al.*, 2002).

Dilaporkan oleh Deinema dan Zevenhuizen (1971) bahwa beberapa bakteri yang mampu mensintesis selulosa adalah *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* dan *Sarcina*. Selulosa dari bakteri sangat menarik karena sifat fisik selulosa bakteri berbeda dari selulosa tanaman (Ross *et al.*, 1991; Yoshinaga *et al.*, 1997). Selulosa bakteri mempunyai komposisi kimia yang sama dengan selulosa pada tanaman,

tetapi berbeda dalam hal struktur tiga dimensi, derajat polimerisasi, dan sifat fisiokimia (Krystynowicz dan Bielecki, 2001). Derajat polimerisasi selulosa bakteri berkisar antara 2.000-6.000 (Bielecki *et al.*, 2003). Dalam kasus tertentu derajat polimerisasi selulosa mencapai 11.000-16.800 (Takahara *et al.*, 1998). Dilaporkan bahwa selulosa tanaman yang telah melalui proses pemurnian (pulp kayu) memiliki derajat polimerisasi antara 500–2.100 (Klug, 1964).

Sifat fisiokimia yang dimiliki selulosa bakteri adalah kemurnian dan derajat kekristalan yang tinggi, elastis, dapat menyerap air dengan kapasitas yang tinggi, luas area permukaan yang tinggi, mudah terdegradasi secara hayati, dan memiliki kekuatan tarik yang tinggi (Krystynowicz dan Bielecki, 2001). Dilaporkan oleh Bae and Shoda (2005) bahwa *Acetobacter Xylinum subsp. Sucrofermentans* BPR 2001 dapat menghasilkan selulosa dalam jumlah relatif lebih banyak dibandingkan dengan bakteri lainnya. Sementara itu, Melliawati *et al.* (2000), melaporkan bahwa media HB memberikan hasil terbaik untuk pertumbuhan *Acetobacter* sp. RMG-2 dan *Acetobacter* sp. EMN-1 serta menghasilkan berat selulosa lebih banyak dari medium uji yang lain.

Karboksimetil selulosa (CMC) dengan tingkat kemurnian yang tinggi (*purified grade*), yang terkenal sebagai gum selulosa, telah digunakan secara luas dalam bidang industri makanan dan farmasi. Dalam industri makanan, karboksimetil selulosa digunakan sebagai pengental, pencegah *sinerisis*, dan pencegah pembentukan kristal es.

Karboksimetil selulosa bersifat tidak larut dalam asam lambung, tetapi larut dalam cairan basa di usus. Sifat inilah yang menyebabkan karboksimetil selulosa digunakan untuk pembuatan tablet atau serbuk obat dengan cara salut enterik. Selain itu, di bidang farmasi karboksimetil selulosa juga digunakan sebagai pemantap dan zat pembantu dalam granulasi. Pembuatan karboksimetil selulosa dari selulosa bakteri untuk penggunaannya dalam bidang pengobatan mempunyai nilai ekonomi yang tinggi.

Penggunaan selulosa bakteri sebagai bahan baku pembuatan karboksimetil selulosa mempunyai beberapa keuntungan, diantaranya adalah selulosa yang dihasilkan mempunyai kemurnian yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa yang berasal dari tanaman. Selain itu, penghilangan pengotor pada selulosa tanaman memerlukan energi dan bahan kimia yang dapat merusak lingkungan. Karboksimetil selulosa (CMC) merupakan keturunan dari selulosa yang dikarboksimetilasi. Perbedaan asal bahan baku yang digunakan dalam proses pembuatan karboksimetil selulosa dapat mempengaruhi kemurnian hasil. Serat selulosa yang dihasilkan dari tanaman pada umumnya tercampur dengan lignin sehingga diperlukan proses pemurnian melalui proses penghilangan lignin. Selama ini selulosa bakteri juga telah lama dimanfaatkan sebagai diafragma audio, serat tekstil, perawatan luka, pembuat kertas dan janggut buatan (Yoshinaga *et al.*, 1997).

Kebutuhan bahan baku karboksimetil selulosa sangat meningkat terutama pada bidang industri makanan maupun farmasi oleh karena itu produksi karboksimetil selulosa mulai dimaksimalkan untuk memenuhi target kebutuhan industri. Bahan baku utama dari karboksimetil selulosa adalah serat selulosa. Dengan adanya usaha potensial untuk mengembangkan serat selulosa dari mikroorganisme, maka hal tersebut dapat mengurangi kebutuhan akan kayu pohon serta meminimalkan kerusakan lahan tempat tanaman tumbuh. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat perbedaan selulosa yang dihasilkan oleh bakteri (*Acetobacter xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2) dengan selulosa tanaman serta untuk mengetahui keunggulan karboksimetil selulose yang dihasilkan oleh bakteri tersebut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Mikroorganisme

Bakteri yang digunakan adalah *A. xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 yang merupakan koleksi Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI. Selulosa pembanding diambil dari selulosa tanaman (*tissue*).

Media

Media HB (*Hassid and Backer medium* Yusuf dan Suwanto, 1982): sebanyak 25 g glukosa, 0,15 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,625 g ekstrak ragi, 1,25 g K_2HPO_4 dan 0,05 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dilarutkan dalam 1 liter air kelapa, kemudian dipanaskan hingga mendidih setelah itu didinginkan, tambahkan 5 ml CH_3COOH pekat sampai mencapai pH 4-5. Sebanyak 250 ml larutan tersebut dituangkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml kemudian disterilisasi pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah medium dingin diinokulasi dengan bakteri dan diinkubasi selama 5 hari pada alat *shaker incubator* pada suhu 30°C . Untuk media produksi disiapkan dengan komposisi media HB dan media GAA (Melliawati *et al.*, 2000) yang berisi : 3 g gula, 5 g ZA dan 5 ml Asam cuka pekat, setelah disterilisasi media dituangkan ke dalam nampan dalam kondisi panas kemudian didinginkan. Masukkan starter sebanyak 25 ml/nampan/liter setelah media dingin, kemudian nampan ditutup dengan kertas. Selanjutnya disimpan di tempat datar dan tidak terganggu selama 1 minggu.

Pencucian Selulosa Bakteri

Massa selulosa bakteri yang baru dipanen dicuci dengan air kran lalu diberi tekanan hingga hampir seluruh air keluar, direndam dalam larutan NaOH 1% selama 1 minggu, dinetralkan dengan CH_3COOH , kemudian dibilas dengan aquades.

Preparasi Selulosa

Selulosa bakteri yang berbentuk lembaran tipis setelah melalui proses pencucian dihancurkan dengan blender kemudian di keringkan menggunakan alat *freeze drier*, kemudian dimasukkan dalam oven pada suhu 55°C dan dihancurkan kembali lalu disaring dengan ayakan (± 60 mesh) hingga diperoleh serbuk padatan yang halus. Untuk selulosa yang berasal dari tanaman/tissue setelah dihancurkan dengan blender hingga halus seperti kapas dapat langsung digunakan.

Pembuatan Karboksimetil Selulosa

Pembuatan karboksimetil selulosa yang dilakukan mengacu pada Geyer *et al.* (1994). Selulosa bakteri yang sudah dihaluskan direndam dalam isopropanol. Contoh selulosa basah (10 g selulosa terdapat dalam 150 ml isopropanol) diaduk dengan pengaduk magnet pada suhu kamar selama 15 menit, kemudian ditambahkan 40 ml NaOH dengan konsentrasi 35 % sedikit demi sedikit selama 30 menit dan aduk selama 1 jam hingga homogen. Setelah itu tambahkan 32 g asam monokloroasetat, diaduk selama 30 menit. Campuran tersebut dipindahkan ke dalam *shaker inkubator* pada suhu 55°C selama 4 jam, disaring, ditambahkan metanol 80% dan dinetralkan dengan asam asetat pada suhu kamar. Setelah itu disaring kembali, CMC dicuci dengan metanol absolut, dan dikeringkan pada suhu 55°C .

Analisis Karboksimetil Selulosa

Analisis ini merupakan suatu cara untuk mengetahui kualitas selulosa bakteri dengan membandingkannya dengan karboksimetil selulosa tanaman.

Analisis Struktur Permukaan Selulosa

Selulosa yang akan dianalisis dengan menggunakan mikroskop dipotong berbentuk kotak (0,5 x 0,5 cm). Spesimen ditiriskan dan dihilangkan airnya secara bertahap melalui perendaman etanol 96%. Kemudian spesimen direndam kembali dengan etanol absolut sebanyak dua kali selama 10 menit, direndam *t*-butanol dua kali selama 10 menit, dan terakhir dibekukan dalam lemari pembeku selama satu jam. Setelah itu diamati dengan mikroskop.

Analisis Susut Pengeringan

Botol timbang dipanaskan pada suhu 105°C selama 1 jam lalu didinginkan dalam eksikator sebelum ditimbang. Sebanyak 2 g contoh ditimbang dengan neraca analitik. Botol timbang dimasukkan

ke dalam oven dengan tutup terbuka pada suhu 105°C selama 2 jam, dinginkan dalam eksikator. Contoh sampel ditimbang kembali. Metoda kerja ini dilanjutkan hingga kehilangan bobot tidak lebih dari 5 mg selama 30 menit pengeringan.

contoh setelah dikeringkan

$$\text{Kadar air} = \left(\frac{W_1 - W_2}{W_1} \right) \times 100\%$$

W_1 = bobot contoh (g) dan W_2 = bobot

Analisis Kadar Garam (Metode Mohr)

Contoh yang akan dianalisis ditimbang sebanyak 2 g kemudian ditambahkan 50 ml air dan 5 ml H_2O_2 30% dalam Erlenmeyer 250 ml. Selanjutnya contoh diletakkan di atas penangas air 100°C selama 20 menit sambil diaduk. Selanjutnya larutan didinginkan dan ditambahkan 100 ml air. Dalam suasana netral, larutan dititrasi dengan AgNO_3 0,1 M dengan K_2CrO_4 sebagai indikator.

$$\text{Kadar NaCl} = \frac{V \times N \times 58,45 \times 100\%}{A \times (100 - B)}$$

V = volume AgNO_3 (ml), N = normalitas AgNO_3 , 58,45 = bobot molekul NaCl, A = bobot contoh (mg), dan B = kadar air.

Analisis Kadar Natrium Hidroksida (Titration Balik)

Contoh ditimbang sebanyak 0,5 g dan dimasukkan dalam gelas piala 250 ml yang diisi 100 ml aquadest dan 20 ml H_2SO_4 0,5 N (secara volumetrik). Piala gelas beserta isinya dipanaskan, dan diberi beberapa tetes fenolftalin. Apabila warna merah pada alkali selulosa sudah hilang, berarti NaOH dalam alkali selulosa sudah bereaksi dengan H_2SO_4 . Selanjutnya gelas piala didinginkan. Jika sudah dingin, kelebihan H_2SO_4 dititrasi dengan larutan NaOH 0,1 N.

$$\text{Kadar NaOH} = \frac{(b - a) \times 40 \times N \times 100\%}{\text{Bobot} \cdot \text{cuplikan} \cdot (\text{mg})}$$

N = normalitas NaOH, b = volume blanko, a = volume titran NaOH, dan 40 = bobot molekul NaOH.

Analisis Kerapatan Padatan

Contoh karboksimetil selulosa padat sebanyak 1 g dilarutkan dalam 100 ml air suling. Larutan tersebut kemudian diukur dengan *density meter* PAAR DMA 38.

Analisis Indeks Bias dan pH

Contoh karboksimetil selulosa padat sebanyak 1 g dilarutkan dalam 100 ml aquadest. Larutan tersebut kemudian diukur dengan refraktometer dan pH meter.

Analisis Viskositas CMC

Serangkaian larutan karboksimetil selulosa dibuat dengan konsentrasi 0-1% dalam pelarut NaCl 0,1%. Seluruh larutan tersebut diukur nilai kekentalannya dengan *viskometer Brookfield* dengan kecepatan putaran bandul 100 rpm.

Analisis Gugus Fungsional

Contoh padat karboksimetil selulosa bakteri dan selulosa tanaman, dihaluskan bersama-sama KBr hingga halus, diberi tekanan hingga membentuk pellet, lalu dianalisis dengan spektrofotometer infra merah (FTIR).

HASIL

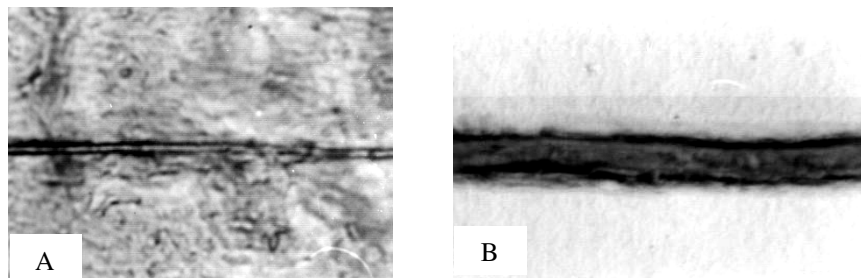
Selulosa yang diproduksi oleh *Acetobacter* sp. RMG-2 sebanyak 750 gram berat basah dan oleh *A. xylinum* 850 gram berat basah, selama masa inkubasi selama 7 hari. *A. xylinum* lebih unggul dari *Acetobacter* sp. RMG-2 dalam menghasilkan selulosa. Kadar air masing masing adalah 97,6 % (*A. xylinum*) dan 98,7 % (*Acetobacter* sp. RMG-2) (Tabel 1).

Tabel 1. Kadar air selulosa

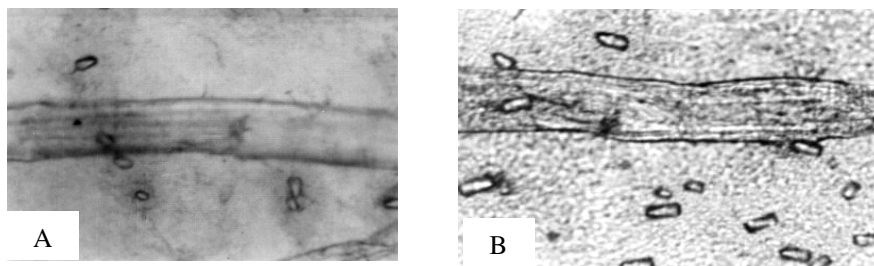
No	Contoh Selulosa	Berat Basah selulosa (gram)	Berat kering Selulosa (gram)	Kadar Air (%)
1	<i>Acetobacter xylinum</i>	850	20,4	97,6
2	<i>Acetobacter</i> sp. RMG-2	785	14,3	98,7

Serat selulosa bakteri yang telah melalui proses alkalisasi atau proses perendaman menggunakan NaOH 1% selama 1 minggu menghasilkan serat selulosa yang mempunyai struktur permukaan mirip dengan struktur permukaan serat selulosa tanaman

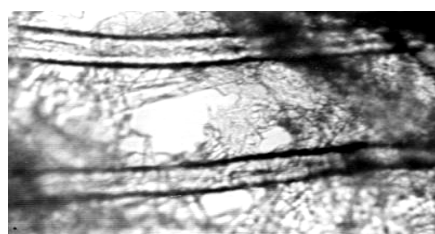
(Gambar 1B dan 2 B). Serat-serat dipermukaan selulosa tanaman terlihat mempunyai ruang yang lebih luas dibandingkan dengan serat selulosa bakteri (Gambar 3).



Gambar 1. Serat selulosa bakteri *A. xylinum* sebelum proses alkalisasi (A) dan serat selulosa bakteri *A. xylinum* setelah proses alkalisasi (B)



Gambar 2. Serat selulosa bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 sebelum proses alkalisasi (A) dan serat selulosa bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 setelah proses alkalisasi (B)



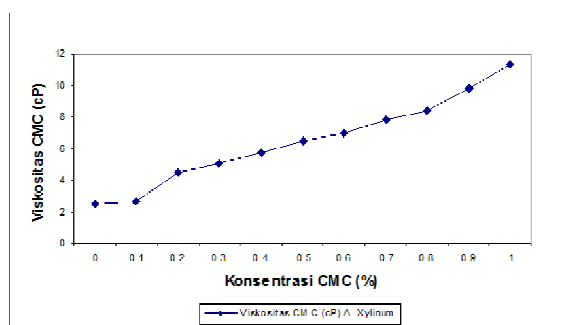
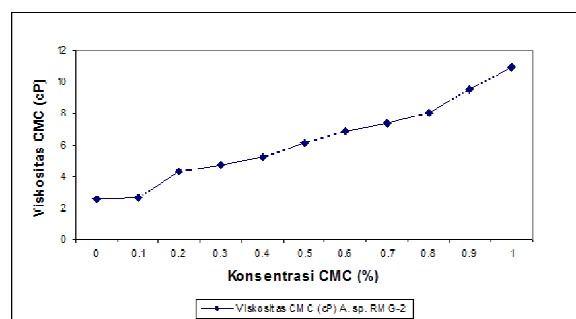
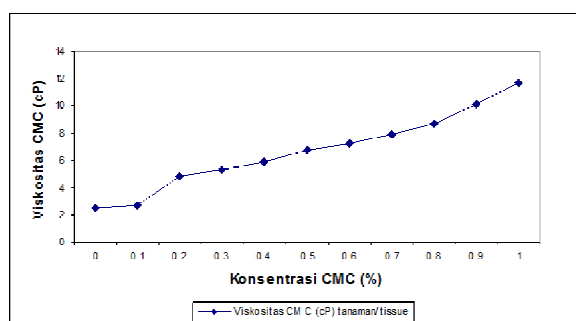
Gambar 3. Serat selulosa tanaman /tissue

Tabel 2. Hasil analisis karboksimetil selulosa (CMC) bakteri dan tanaman /tissue

No	Parameter	Satuan	Contoh		
			CMC <i>A. xylinum</i>	CMC RMG-2	CMC Tanaman
1	Kadar Air	%	6,27	5,86	7,24
2	Kadar Garam	%	0,16	0,18	0,23
3	Kadar NaOH	%	0,7	0,7	0,35
4	Indeks Refleksi	-	1,3325	1,3330	1,3350
5	Kerapatan Padatan	g/cm ³	0,9998	0,9979	0,9978
6	Derajat Keasaman (pH)	-	7,24	7,12	7,45

Kadar garam CMC bakteri *A. xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 masing-masing diperoleh 0,16% dan 0,18% sedangkan pada CMC tanaman yaitu 0,23%. Hasil Analisis kadar NaOH sisa pada CMC bakteri *A. xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 masing-masing didapat 0,7% dan 0,7% sedangkan pada CMC tanaman 0,35%. Sementara itu, hasil indeks refleksi dari CMC *A. xylinum*, *Acetobacter* sp. RMG-2 dan dari CMC tanaman masing-masing diperoleh 1,3325, 1,3330 dan 1,3350 sedang kerapatan padatan untuk *A. xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 masing-masing 0,9998, 0,0079 sedang pada tanaman 0,09978 (Tabel 2).

Viskositas CMC pada *A. xylinum*, *Acetobacter* sp. RMG-2 dan viskositas CMC tanaman, terlihat meningkat sejalan dengan makin kentalnya konsentrasi CMC. Pada konsentrasi 0,4% CMC diperoleh masing masing yaitu 5,78 cP, 5,25 cP dan 5,91 cP. (Gambar 4, 5 dan 6).

**Gambar 4.** Grafik viskositas CMC *Acetobacter xylinum***Gambar 5.** Grafik viskositas CMC bakteri**Gambar 6.** Grafik viskositas CMC tanaman /tissue

Hasil analisa gugus fungsi untuk senyawa CMC dari bakteri *A. xylinum* menunjukkan adanya serapan melebar pada 3432,5 cm⁻¹ (Tabel 3), sedang pada *A. sp* RMG-2 tercatat adanya serapan melebar pada 3457,7cm⁻¹ (Tabel 4) dan serapan melebar pada tanaman tercatat 3413,5 cm⁻¹ (Tabel 5). Hasil analisa gugus fungsi menggunakan spektrofotometer *infra Red* pada CMC bakteri dan CMC tanaman, menunjukkan terbentuknya gugus metil, gugus karboksil dan gugus gula.

Tabel 3. Gugus fungsi senyawa CMC dari bakteri *A. xylinum*

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
1	3432,5	OH stretch
2	3034,5	C-H aromatic stretch
3	2842,0	C-H stretch
5	2147,0	Combination bend
6	1619,9	C=C aromatic
7	1003,7	C-O-C simetric stretch
8	578,8	C-H aromatic bend

Tabel 4. Gugus fungsi senyawa CMC dari bakteri *A. xylinum* RMG-2

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
1	3457,7	OH stretch
2	3002,2	C-H aromatic stretch
3	2893,1	C-H stretch
5	2168,0; 2078,0	Combination bend
6	1604,8	C=C aromatic
7	1061,5	C-O-C simetric stretch
8	600,8	C-H aromatic bend

Tabel 5. Gugus fungsi senyawa CMC dari tanaman/tissue

No	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Gugus Fungsi
1	3413,5	OH stretch
2	3015,7	C-H aromatic stretch
3	2922,7	C-H stretch
5	2129,4	Combination bend
6	1634,1	C=C aromatic
7	1009,7	C-O-C simetric stretch
8	890,7	C-H aromatic bend

PEMBAHASAN

Pembentukan Selulosa Bakteri

Selulosa bakteri terbentuk dari benang-benang selulosa yang kemudian membentuk suatu jalinan seperti tekstil (Thimann, 1955). Kemampuan dalam

membentuk benang-benang (fibril) selulosa, berbeda untuk setiap bakteri (Masaoka *et al.*, 1993). Pada penelitian ini, terlihat bahwa *A. xylinum* lebih unggul dari *Acetobacter* sp. RMG-2 dalam menghasilkan selulosa. Berat selulosa yang diproduksi oleh

Acetobacter xylinum lebih besar dari pada oleh *Acetobacter* sp. RMG-2 baik berat basah maupun berat kering tetapi tidak berbeda nyata (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa *Acetobacter* sp. RMG-2 yang merupakan bakteri lokal mempunyai potensi untuk dikembangkan dan dipakai sebagai inokulum untuk produksi selulosa.

Analisis Struktur Permukaan Serat Selulosa Bakteri

Selulosa tanaman dan selulosa bakteri memiliki sifat fisik yang berbeda. Serat-serat dipermukaan selulosa bakteri lebih rapat dibandingkan dengan serat-serat pada selulosa tanaman. Perbedaan sifat tersebut dapat mempengaruhi produk turunan yang dihasilkan, serat selulosa yang rapat dapat dibuat lebih berongga dengan menggunakan natrium hidroksida.

Pada hasil pengamatan terlihat perbedaan yang sangat besar dari serat-serat permukaan selulosa bakteri dengan serat selulosa tanaman. Selain itu dari hasil pengamatan terlihat juga perbedaan yang cukup jauh dalam hal kerapatan antara serat selulosa bakteri yang belum melalui proses alkalisasi dengan selulosa bakteri yang telah melalui proses alkalisasi. Hal ini kemungkinan bahwa proses alkalisasi pada serat selulosa bakteri dapat menyebabkan melebarnya pori-pori selulosa dan terjadinya pembengkakan struktur selulosa.

Analisis Karboksimetil Selulosa

Kadar air ditetapkan dengan metode pemanasan menggunakan oven pada suhu 105°C dengan metode tersebut yang terukur adalah air bebas (air yang menguap). Sementara itu di dalam bahan masih terdapat air yang terikat (*bound water*) yang sulit diuapkan karena terikat pada komponen lain pada bahan tersebut. Kadar air dari CMC bakteri *A. xylinum*, *Acetobacter* sp. RMG-2 dan tanaman diperoleh masing masing 6,27%, 5,86% dan 7,24%. Perbedaan kadar air antara bakteri dan tanaman (tissue) tidak berbeda nyata.

Kadar garam ditetapkan dengan metode volumetri tepatnya argentometri, yaitu menggunakan

AgNO₃ sebagai bahan baku dalam titrasi dan sebagai indikator digunakan Kalium kromat. Konsentrasi garam yang terdapat dalam CMC bakteri lebih besar dari CMC tanaman, keadaan ini disebabkan adanya kemungkinan masih terdapatnya zat pengotor pada selulosa bakteri setelah proses alkalisasi atau kemungkinan ketidaksempurnaan pada proses pencucian.

NaOH berfungsi untuk mendepolimerisasi rantai selulosa sehingga gugus karboksimetil lebih mudah melekat pada gugus hidroksil. Dari data ini diketahui bahwa kadar NaOH sisa pada CMC tanaman lebih kecil dari CMC bakteri. Hal ini dikarenakan kurang maksimalnya proses depolimerisasi rantai selulosa oleh larutan NaOH.

Hasil analisis indeks refleksi, kerapatan padatan dan derajat keasaman dari CMC bakteri *A. xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 tidak menunjukkan perbedaan yang berarti dengan CMC tanaman (Tabel 2.). Hasil tersebut sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI, 1995).

Analisis Viskositas Karboksimetil Selulosa

Hasil analisis kadar kekentalan larutan karboksimetil selulosa dari CMC bakteri dan tanaman menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi CMC yang terkandung, maka larutan semakin kental (Gambar 4, 5 dan 6). Hasil analisis yang didapat dari CMC bakteri sesuai dengan standar yang berlaku yaitu dalam konsentrasi larutan CMC 1% mengandung kekentalan 5,0- 6 cp (Grant *et al.*, 1997).

Identifikasi Senyawa dengan Spektrofotometer Infra merah

Analisis gugus fungsi dengan Spektrofotometer *Infra Red* merupakan pengujian lebih lanjut dan sangat penting untuk mengetahui keberhasilan proses kopolimerisasi pada karboksimetil selulosa. Parameter keberhasilan dapat diketahui dengan terbentuknya gugus metil, karboksil dan gugus gula yang dapat dilihat pada spektrum *Infra Red*.

Analisis gugus fungsi dengan menggunakan spektrofotometer *Infra Red* menghasilkan spektrum *Infra Red*. Untuk senyawa CMC dari bakteri *A. xylinum* menunjukkan adanya serapan melebar pada $3432,5\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi ulur OH, serapan $1619,9\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi ulur gugus karbonil dan vibrasi tekukan gugus OH pada $1415,2\text{ cm}^{-1}$. Adanya vibrasi ulur gugus CH pada serapan $3034,5\text{ cm}^{-1}$ dan $2842,0\text{ cm}^{-1}$ dan untuk vibrasi ulur asimetri gugus C-O-C pada serapan $1003,7\text{ cm}^{-1}$ (Tabel 3).

Hasil analisis spektrum *Infra Red* untuk senyawa CMC dari bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 menunjukkan adanya serapan melebar pada $3457,7\text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi ulur gugus OH, serapan $1604,8\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi ulur gugus karbonil dan vibrasi tekukan gugus OH pada 1458 cm^{-1} . Adanya vibrasi ulur gugus CH pada serapan $3002,2\text{ cm}^{-1}$ dan $2893,1\text{ cm}^{-1}$ untuk vibrasi ulur asimetri gugus C-O-C pada serapan $1061,5\text{ cm}^{-1}$ (Tabel 4).

Hasil analisis spektrum infra merah untuk senyawa CMC dari selulosa tanaman menunjukan adanya serapan melebar pada $3413,5\text{ cm}^{-1}$ merupakan vibrasi ulur gugus OH, serapan $1634,1\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi ulur gugus karbonil dan untuk tekukan gugus OH pada $1410,2\text{ cm}^{-1}$. Adanya vibrasi ulur gugus CH pada serapan $3015,7\text{ cm}^{-1}$ dan $2857,7\text{ cm}^{-1}$ dan untuk vibrasi ulur asimetri gugus C-O-C pada serapan $1009,7\text{ cm}^{-1}$ (Tabel 5). Analisis gugus fungsi dari karboksimetil selulosa bakteri, memenuhi parameter keberhasilan karena dapat dilihat melalui spektrum *Infra Red*, terbentuknya gugus metil, gugus karboksil dan gugus gula.

KESIMPULAN

Karboksimetil selulosa yang dihasilkan dari selulosa bakteri sama baiknya dengan CMC dari tanaman (sesuai Standar Nasional Indonesia) dan mempunyai karakteristik menyerupai CMC dari tanaman. Selulosa yang dihasilkan dari bakteri mempunyai kemurnian yang relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa yang berasal dari

tanaman dan dalam proses pembuatannya tidak merusak lingkungan. Bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 yang merupakan bakteri lokal mempunyai potensi untuk dikembangkan dalam memproduksi CMC, untuk menunjang keperluan industri pangan dan farmasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pimpinan proyek Penelitian Bioteknologi-LIPI yang telah memberikan dana dalam penelitian ini dan kepada Sdr. Nuryati atas bantuan teknisnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Bae SO and M Shoda. 2005. Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* BPR2001 using molasses medium in a jar fermentor. *Applied Microbiology and Biotechnology* **67**(1), 45-51.
- Bielecki S, A Krystynowicz, M Turkiewicz and H Kalinowska. 2003. Bacterial cellulose. <http://www.wiley-vch.de/books/bioply/pdf-v05/bpol5003-37-46.pdf>.
- Brown RM Jr, M Saxena and K Kudlicka. 2002. Cellulose Biosynthesis in Higher Plants. <http://www.botany.utexas.edu/infocent/cen/library/recpub>.
- Deinema MH and LPTM Zevenhuizen. 1971. Formation of Cellulose fibrils by gram-negative bacteria and their role in bacterial flocculation. *Ach. Microbiol.* **79**, 42-57.
- Geyer U, T Heinze, A Stein, D Klemm, S Marsch, D Schumann and HP Schmauder. 1994. Fermentation, derivatization and applications of bacterial cellulose. *Int Biol. Macromol* **16**, 344-347.
- Grant L.A, YS Kim, and D Wiesenborn. 1997. Pasting and Thermal Properties of Potato and Bean Starch. *Starch* **49** (3), 97-102.
- Juyuf A dan A. Suwanto. 1982. Mempelajari pembuatan Nata de Coco di CV Tunas Sari, Bogor. Fakultas Teknologi Pertanian IPB.
- Klug ED. 1964. Cellulose. In: *Encyclopedia of chemical Technology* **5**, 2nd Ed. HP Mark, JJ Mc Ketta and DF Othmer (Eds), 593-644. Kirk-Othmer Interscience Publication, John Wiley and Sons, New York.
- Krystynowicz S and S Bielecki. 2001. *Biosynthesis of bacterial cellulose and its potential application in the different industries*, Polish Biotechnology News, Lodz. <http://www.biotechnology.pl.com/science/krystynowicz.htm>.
- Masaoka S, T Ohe and N Sakota. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *Journal of Fermentation and Bioengineering* **75**(1), 18-22.
- Melliawati R, F Octavina dan Masrih. 2000. Pengaruh derajat keasaman media terhadap pertumbuhan sel dan pembentukan selulosa oleh *Acetobacter* sp. RMG-2. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi III*, Cibinong, 7-9 Maret 2000. M.A. Subroto dkk., 565-572. Pusat Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi LIPI.
- Ross P, R Mayer and M Benziman. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiol. Rev.* **55**, 35-58.

- SNI. 1995.** Natrium Karboksimetil Selulosa Teknis. SNI 06-373-1995 Dewan Standarisasi Indonesia, Jakarta.
- Takahara N, N Tonouchi, H Yano and F Yoshinaga. 1998.** Purification and characterization of exol, 4 -glukosidase from *Acetobacter xylinum* BPR 2001. *J. Ferment and Bioeng* **85**, 589-594.
- Thimann KV. 1955.** *The Life of Bacteria*, 775. Their growth, metabolism and relationships. MacMillan Co., New York.
- Yoshinaga F, T Naoto and W Kuchiko. 1997.** Reseach progress in production of Bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as new industrial material. *J. Biosci Biotech Biochem* **61**, 219-224.