

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. *Microbial Cellulose (Bakterioselulosa)*

Secara kimia *bakterioselulosa*, atau lebih populer sebagai bahan pangan yang dikenal sebagai *nata*, adalah berwujud biomassa yang sebagian besar terdiri dari selulosa, berbentuk agar dan berwarna putih. Biomassa ini berasal dari hasil metabolisme pertumbuhan *Acetobacter xylinum* pada permukaan media cair yang asam dan mengandung gula. Karakteristik *nata* yang berkualitas baik dapat diketahui berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) *nata* dalam kemasan. Adapun syarat-syarat mutu *nata* dalam kemasan menurut SNI dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Syarat Mutu *nata* dalam Kemasan Menurut SNI**

No.	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan		
1.1	Bau	-	Normal
1.2	Rasa	-	Normal
1.3	Warna	-	Normal
1.4	Tekstur	-	Normal
2.	Bahan asing	-	Tidak boleh ada
3.	Bobot tuntas	%	Min. 50
4.	Jumlah gula (dihitung sebagai - Sakrosa	%	Min. 15
5.	Serat makanan	%	Maks. 4,5
6.	Bahan Tambahan Makanan		
6.1	Pemanis buatan :		
	- Sakarin		Tidak boleh ada
	- Siklamat		Tidak boleh ada
6.2	Pewarna tambahan		Sesuai SNI 01-0222-1995
6.3	Pengawet (Na Benzoat)		Sesuai SNI 01-0222-1995
7	Cemaran Logam :		
7.1	Timbal (Pb)	mg/kg	Maks. 0,2
7.2	Tembaga (Cu)	mg/kg	Maks. 2
7.3	Seng (Zn)	mg/kg	Maks. 5,0
7.4	Timah (Sn)	mg/kg	Maks. 40,0/250,0
8	Cemaran Arsen (As)		Maks. 0,1
9	Cemaran Mikroba :		
9.1	Angka lempeng total	Koloni/g	Maks. $2,0 \times 10^2$
9.2	Coliform	APM/g	< 3
9.3	Kapang	Koloni/g	Maks. 50
9.4	Khamir	Koloni/g	Maks. 50

Sumber: SNI 01-4317-1996 (1996)



Mikroorganisme yang telah lama dikenal sebagai penghasil selulosa adalah dari golongan bakteri terutama *Acetobacter*. Menurut Shoda dan Sugano (2005), spesies *Acetobacter* yang telah dikenal antara lain *Acetobacter aceti*, *Acetobacter orleansis*, *Acetobacter liquefaciens* dan *Acetobacter xylinum*. *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri berbentuk batang pendek, yang mempunyai panjang 2 mikron dan lebar , micron, dengan permukaan dinding yang berlendir. Bakteri ini bias membentuk rantai pendek dengan satuan 6-8 sel. Bersifat ninmotil dan dengan pewarnaan Gram menunjukkan Gram negative.

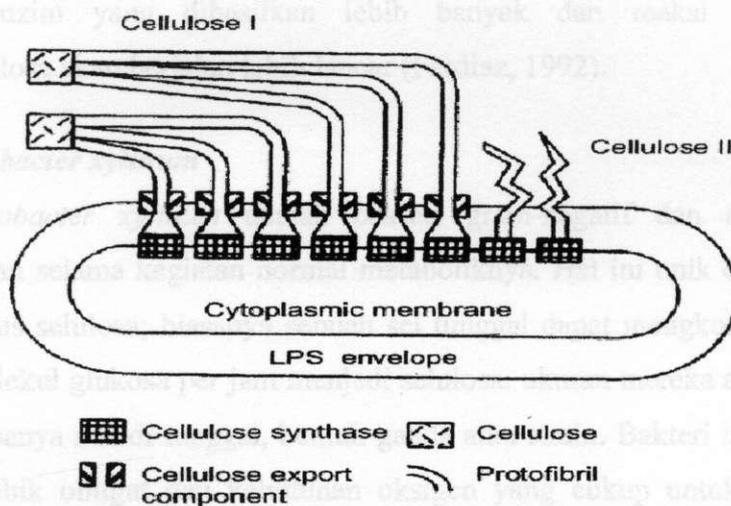
## 2.2. Bakteri Pembentuk *Bakterioselulosa*

Bakteri pembentuk *bakterioselulosa* yaitu *Acetobacter xylinum* termasuk genus *Acetobacter* yang mempunyai ciri-ciri gram negatif, obligat aerobik, berbentuk batang, membentuk kapsul, bersifat non motil, dan tidak membentuk spora. Genus *Acetobater* yang telah dikenal antara lain *Acetobacter aceti*, *Acetobacter orleanensis*, *Acetobater liquefaciens*, dan *Acetobacter xylinum*. Meskipun ciri-ciri yang dimiliki hampir sama dengan spesies lainnya, tetapi *Acetobacter xylinum* tetap dapat dibedakan dengan spesies lainnya karena sifatnya yang unik yaitu mampu membentuk selulosa bila berada pada media yang mengandung gula (Fardiaz, 1992).

Bakteri pembentuk *bakterioselulosa* pertama-tama diduga *Leuconostoc* sp., akan tetapi kemudian dipastikan bahwa bakteri pembentuk *bakterioselulosa* adalah *Acetobacter xylinum*. Klasifikasi ilmiah bakteri *Acetobacter xylinum* adalah: Kerajaan: *Bacteria*, Filum: *Proteobacteria*, Kelas: *Alphaproteobacteria*, Ordo: *Rhodospirillales*, Famili: *Acetobacteraceae*, Genus: *Acetobacter*, Spesies: *Acetobacter xylinum*, Bakteri *Acetobacter xylinum*, mengalami pertumbuhan sel. Pertumbuhan sel 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 (Riswanda, 2009).

Menurut Djumarti (1993), pembuatan *bakterioselulosa* tergantung aktivitas *Acetobacter xylinum*. Derajat keasaman (pH) merupakan faktor paling penting dalam pertumbuhan bakteri, terutama kerja enzim dari bakteri tersebut.

*Acetobacter xylinum* tergolong bakteri asam asetat yang menyukai suasana asam dan pH rendah, di mana kondisi pH optimum untuk menghasilkan bakterioselulosa adalah pH 3-4. Menurut Astuti dan Prabasari (2004), pada awal fermentasi setelah kultur *Acetobacter xylinum* diinokulasi pada medium fermentasi maka bakteri ini akan tumbuh dengan baik dan membelah diri secara eksponensial sampai jumlah maksimum dimana didukung oleh kondisi lingkungan medium yang baik sehingga dapat mensintesis polisakarida berupa selulosa. Selulosa tersebut terbentuk oleh *Acetobacter xylinum* sebagai suatu produk dari metabolisme.



Gambar 1: Proses terbentuknya *Bakterioselulosa* (Iguchi dkk, 2000)

Faktor-faktor yang mempengaruhi *Acetobacter xylinum* untuk mengalami pertumbuhan adalah sumber karbon, sumber nitrogen, serta tingkat keasaman media temperatur, dan udara (senyawa karbon yang dibutuhkan dalam fermentasi bakterioselulosa berasal dari monosakarida dan disakarida. Sumber dari karbon ini yang paling banyak digunakan adalah gula. Sumber nitrogen bisa berasal dari bahan organik seperti ZA, urea. Meskipun bakteri *Acetobacter xylinum* dapat tumbuh pada pH 3,5 – 7,5, namun akan tumbuh optimal bila pH nya 4,3. sedangkan suhu ideal bagi pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* pada suhu 28 – 31<sup>0</sup>C. Bakteri ini sangat memerlukan oksigen, sehingga dalam fermentasi tidak perlu ditutup rapat namun hanya ditutup untuk mencegah kotoran masuk ke dalam media yang dapat mengakibatkan kontaminasi (Riswanda, 2009).

### 2.2.1 Starter *Bakterioselulosa*

Starter (bibit) sangat memegang peranan penting dalam keberhasilan pembuatan *bakterioselulosa*. Starter atau inokulum adalah kultur mikroba aktif yang diinokulasikan ke dalam medium fermentasi pada saat berada di fase pertumbuhan eksponensial. Pada pembuatan *bakterioselulosa*, starter yang digunakan biasanya berasal dari kultur cair *Acetobacter xylinum* yang telah diinkubasi selama 3 sampai 4 hari. Jumlah starter yang ditambahkan berkisar antara 10-25% dari volume medium fermentasi. Tujuan pembuatan starter *bakterioselulosa* adalah untuk memperbanyak bakteri *Acetobacter xylinum*, sehingga enzim yang dihasilkan lebih banyak dan reaksi pembentukan *bakterioselulosa* akan berjalan lebih lancar (Fardiaz, 1992).

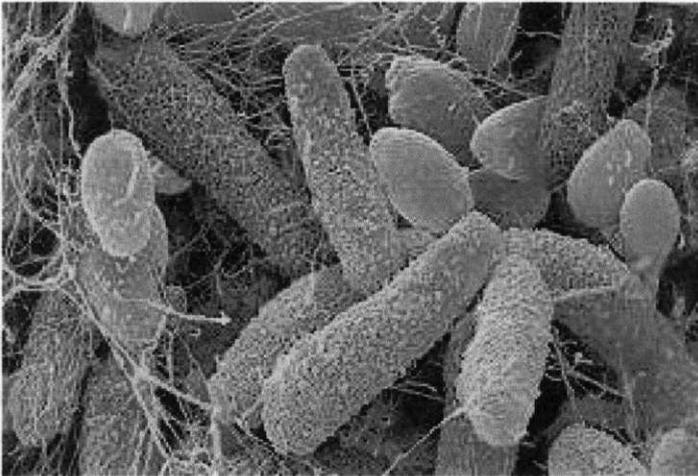
### 2.2.2. *Acetobacter xylinum*

*Acetobacter xylinum* adalah bakteri gram-negatif dan aerobik yang mengeluarkan selama kegiatan normal metaboliknya. Hal ini unik dalam sintesis produktif atas selulosa; biasanya sebuah sel tunggal dapat mengkonversi sampai  $10^8$  dari molekul glukosa per jam menjadi selulosa. ukuran mereka adalah 0,6-0,8  $\mu\text{m}$  dan biasanya ada di tunggal, bentuk ganda atau strain. Bakteri ini merupakan bakteri aerobik obligat dan kebutuhan oksigen yang cukup untuk membentuk membran selulosa dan untuk hidup (Ross, dkk. 1991).

Bakteri ini memiliki kemampuan untuk menghasilkan beberapa poli  $\beta$ -1, rantai 4-glucan, kimia identik dengan selulosa. Beberapa rantai selulosa disintesis pada permukaan bakteri di situs di luar membran sel. Nilai pH yang cocok untuk bakteri ini adalah 3,5-7,0 dengan pH optimum 5,0 (Ross, dkk. 1991). Bakteri ini tidak bisa meniru pada suhu  $37^\circ\text{C}$  meskipun media optimum digunakan. suhu optimal adalah antara  $25\text{-}30^\circ\text{C}$ .

*Acetobacter xylinum* adalah satu-satunya spesies diketahui mampu memproduksi selulosa untuk membenarkan bunga komersial. Oleh karena itu, genus *Acetobacter* dikenal dengan sintesis selulosa yang digunakan secara luas dalam produk makanan fermentasi. Beberapa karakteristik *Acetobacter xylinum* adalah bakteri gram-negatif, peritrichous motil dengan flagela, obligat aerob, tidak membentuk endospores dan yang ada di tanah, air, bunga, buah-buahan dan lebah

madu (pada intinya) di mana terjadi fermentasi gula. *Acetobacter aceti* memiliki empat subspecies, yaitu *aceti*, *orleanensis*, *xylinum* dan *liquafaciens*.



Gambar 2: *Acetobacter xylinum* di lihat dari Mikroskop Elektron (Norhayati, 2009).

*Acetobacter xylinum* adalah satu-satunya spesies diketahui mampu memproduksi selulosa untuk membenarkan bunga komersial. Oleh karena itu, genus *Acetobacter* dikenal dengan sintesis selulosa yang digunakan secara luas dalam produk makanan fermentasi. Beberapa karakteristik *Acetobacter xylinum* adalah bakteri gram-negatif, peritrichous motil dengan flagela, obligat aerob, tidak membentuk endospores dan yang ada di tanah, air, bunga, buah-buahan dan lebah madu (pada intinya) di mana terjadi fermentasi gula. *Acetobacter aceti* memiliki empat subspecies, yaitu *aceti*, *orleanensis*, *xylinum* dan *liquafaciens*.

### 2.3. Kondisi Optimum

*Acetobacter xylinum* ditemukan dalam suatu lingkungan tertentu dan tingkat di mana mereka tumbuh dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, baik fisik dan biokimia. faktor fisik meliputi pH, suhu, konsentrasi oksigen, kelembaban, tekanan hidrostatis, tekanan osmotik dan radiasi. Biokimia faktor termasuk availability karbon, nitrogen, belerang, fosfor, unsur renik dan vitamin.

#### 2.3.1. Derajat Keasaman (pH)

Optimum pH adalah pH di tempat yang dapat memberikan kondisi terbaik tingkat pertumbuhan bacteria. Skala pH mengukur ion hidrogen ( $H^+$ ) konsentrasi.

Konsentrasi hidrogen memberi pengaruh terhadap aktivitas enzim sehingga mempengaruhi pertumbuhan mikroba. pH Tinggi sesuai dengan konsentrasi rendah H<sup>+</sup>, pH rendah sesuai dengan konsentrasi yang tinggi H<sup>+</sup> sedangkan pH netral adalah kondisi dimana jumlah H<sup>+</sup> dan -OH (ion hidroksil) sama. *Acetobacter xylinum* adalah bakteri acidophilic. Artinya, bakteri ini dapat hidup dalam kondisi pH rendah. yaitu dapat tumbuh pada pH 3,5-7,0 dengan optimal pada pH 5,0 (Ross, dkk. 1991).

### 2.3.2 Suhu

Suhu optimum adalah suhu di mana suatu organisme tumbuh terbaik. Biasanya, organisme yang optimum, suhu optimum pertumbuhan ditemukan antara 20 ° C sampai 40 ° C disebut sebagai mesophiles. Oleh karena itu, *Acetobacter xylinum* adalah bakteri mesofilik. Suhu optimal 25-30 ° C. Pada suhu 37 ° C, *Acetobacter xylinum* gagal sepenuhnya untuk melipatgandakan bahkan dalam media yang optimal. Jika suhu tinggi yang digunakan, maka komponen sel seperti asam nukleat dan protein akan didenaturasi. Oleh karena itu, suhu merupakan faktor penting yang akan memberikan dampak yang besar untuk pertumbuhan mikroba (Alina, 2005).

### 2.3.3. Konsentrasi Oksigen

*Acetobacter xylinum* adalah bakteri aerobik obligat yang memiliki metabolisme berbasis oksigen. Oleh karena itu, diperlukan oksigen untuk respirasi aerobik mereka untuk mengoksidasi substrat seperti glukosa untuk memperoleh energi dan mengkonversi glucose menjadi selulosa. Sel bakteri dapat memperoleh oksigen di udara antarmuka cair-mana selulosa dihasilkan. Pasokan oksigen dianggap sebagai faktor pembatas untuk pertumbuhan dan pembentukan selulosa. Konsentrasi oksigen memiliki keterbatasan, terlalu banyak oksigen terlarut dalam medium akan meningkatkan kadar asam glukonat tetapi konsentrasi oksigen terlalu rendah tidak dapat menyediakan oksigen yang cukup untuk pertumbuhan sehingga mengurangi produksi *selulosa* (Ross, dkk. 1991).



### 2.3.4. Faktor Biokimia lain

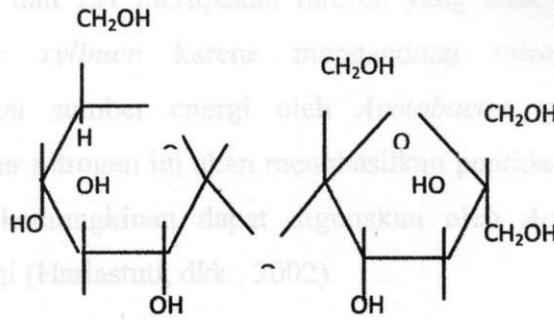
Menurut Hutkins (2006), setiap organisme membutuhkan zat yang berperan untuk pembangkit energi dan biosintesis selular dalam lingkungannya. Semua mikroorganisme memerlukan nutrisi untuk tumbuh, perbaikan diri dan melakukan replikasi. elemen ini adalah karbon, nitrogen, belerang, fosforus dan berbagai unsur renik. Pertumbuhan *Acetobacter xylinum* membutuhkan beberapa elemen utama untuk nutrisi dan juga peran lingkungan (pH, suhu, dan oksigen) yang optimal sehingga produksi bakterioselulosa lebih tinggi.

### 2.4. Sukrosa

Sukrosa adalah fruktosa yang berikatan dengan glukosa. Sukrosa merupakan gula yang biasa digunakan sehari-hari sebagai pemanis, dan berasal dari tebu atau bit. Selain itu sukrosa terdapat juga pada tumbuhan lain, misalnya dalam buah nenas dan wortel (Poedjiadi, 1994). Untuk industri-industri makanan biasanya digunakan sukrosa dalam bentuk kristal halus atau kasar dan banyak juga digunakan dalam bentuk cairan sukrosa (Winarno, 1997).

Sukrosa merupakan senyawa disakarida dengan rumus molekul  $C_{12}H_{22}O_{11}$ . Sukrosa terbentuk melalui proses fotosintesis yang ada pada tumbuh-tumbuhan. Pada proses tersebut terjadi interaksi antara karbondioksida ( $CO_2$ ) dan air ( $H_2O$ ) di dalam sel yang mengandung klorofil. Sukrosa adalah disakarida yang dapat dibuat dari gabungan dua gula yang sederhana yaitu glukosa dan fruktosa (monosakarida). Penggabungan dari *double unit* karbon monosakarida menjadi:  $C_{12}H_{22}O_{11}$  yang selanjutnya dinamakan sukrosa atau *saccharosa*.

Sukrosa merupakan sumber karbon yang paling potensial untuk produksi *Acetobacter xylinum*, tidak hanya karena energi dapat dikonversi dalam pembentukan UDP-glukosa tetapi juga karena sumber karbon ini secara komersial tersedia dalam jumlah yang cukup dan murah. Sukrosa lebih dikenal masyarakat luas dengan gula pasir. Gula pasir berbentuk kristal berwarna putih dan mempunyai rasa yang sangat manis. Gula pasir mengandung sukrosa sebanyak 97,10%, gula reduksi 1,24%, senyawa organik bukan gula 0,7%, dan kadar air 0,65% (Thorpe, 1974). Sukrosa akan digunakan oleh bakteri *Acetobacter xylinum* dalam media fermentasi sebagai sumber energi dan sumber karbon untuk tumbuh dan berkembang.



**Sukrosa**

## 2.5. Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen yang digunakan dalam pembuatan *Bakterioselulosa* adalah pupuk nitrogen, termasuk pupuk kimia dan tunggal. Pada proses pembuatan sumber nitrogen yang digunakan adalah Urea dan ZA. Urea terbuat dari gas amoniak dan gas asam arang. Persenyawaan kedua zat ini melahirkan pupuk urea dengan kandungan N sebanyak 46%. Urea termasuk pupuk yang higroskopis (mudah menarik air). Pada kelembaban 73%, urea sudah mampu menarik uap air dari udara. Oleh karena itu, urea mudah larut dalam air dan mudah diserap oleh tanaman. Kalau diberikan ke tanah, urea akan mudah berubah menjadi amoniak dan karbondioksida. Sifat lainnya adalah tercuci oleh air dan mudah terbakar oleh sinar matahari (Lingga dan Marsono, 2001).

Zwavelzure amoniak yang lebih dikenal dengan sebutan ZA, mengandung unsur N antara 20-21%. Pupuk ini biasanya berbentuk kristal, berwarna putih kekuningan, dan sedikit higroskopis. ZA merupakan pupuk N buatan sebelum urea diproduksi secara massal. Unsur utamanya adalah  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  yang akan bereaksi membentuk amonium dan asam sulfat (Marsono dan Sigit, 2001). Sifat pupuk ZA sedikit higroskopis, tetapi baru menarik uap air pada kelembaban 80% dan suhu  $30^\circ\text{C}$ . Kemudian ZA harus disimpan ditempat kering (Lingga dan Marsono, 2001).

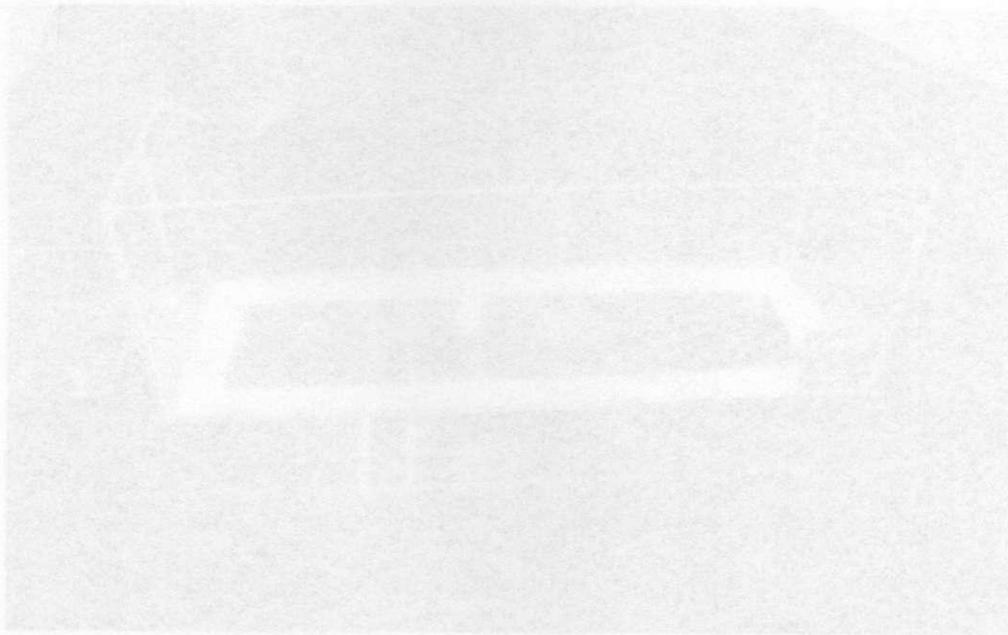
Nitrogen sangat berperan penting dalam merangsang pertumbuhan *Acetobacter xylinum*. Jika sumber nitrogen mudah dimanfaatkan dan dalam jumlah yang cukup maka *Acetobacter xylinum* akan tumbuh dengan baik sehingga *Acetobacter xylinum* dapat memetabolisir sukrosa menjadi polisakarida (selulosa).

Sumber nitrogen yang biasa digunakan adalah sumber nitrogen anorganik seperti urea dan ZA. Urea dan ZA merupakan nutrisi yang baik bagi pertumbuhan bakteri *Acetobacter xylinum* karena mengandung nitrogen yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber energi oleh *Acetobacter xylinum*. Hidrolisis enzimatik dari sumber nitrogen ini akan menghasilkan peptida-peptida dan asam-asam amino yang kemungkinan dapat digunakan oleh *Acetobacter xylinum* sebagai sumber energi (Hariastuti, dkk., 2002).

## 2.6. Bioreaktor Celup (Alternate Dip Bioreactor)

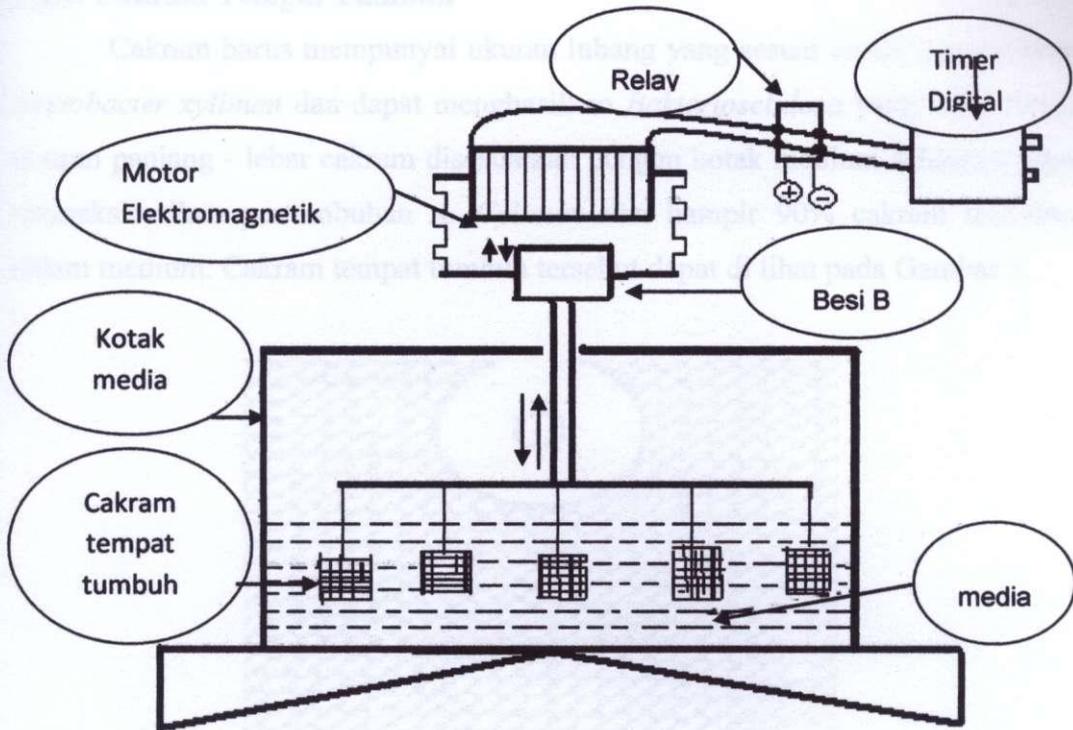
Bioreaktor Celup (Alternate Dip Bioreactor) adalah metode baru dalam memproduksi selulosa mikroba untuk memberikan aerasi yang lebih baik bagi *Acetobacter xylinum* sehingga dapat menghasilkan *bakterioselulosa* yang lebih tinggi dari selulosa mikroba. Diagram prototype rancangan Bioreaktor Celup di perlihatkan pada Gambar 3. Kelebihan alat ini adalah:

1. dapat mengatur waktu fasa kontak udara dan fasa terendam dalam media.
2. dapat mengetahui waktu optimal pertumbuhan *Bakterioselulosa* yang baik.
3. dapat diproduksi dalam skala besar.



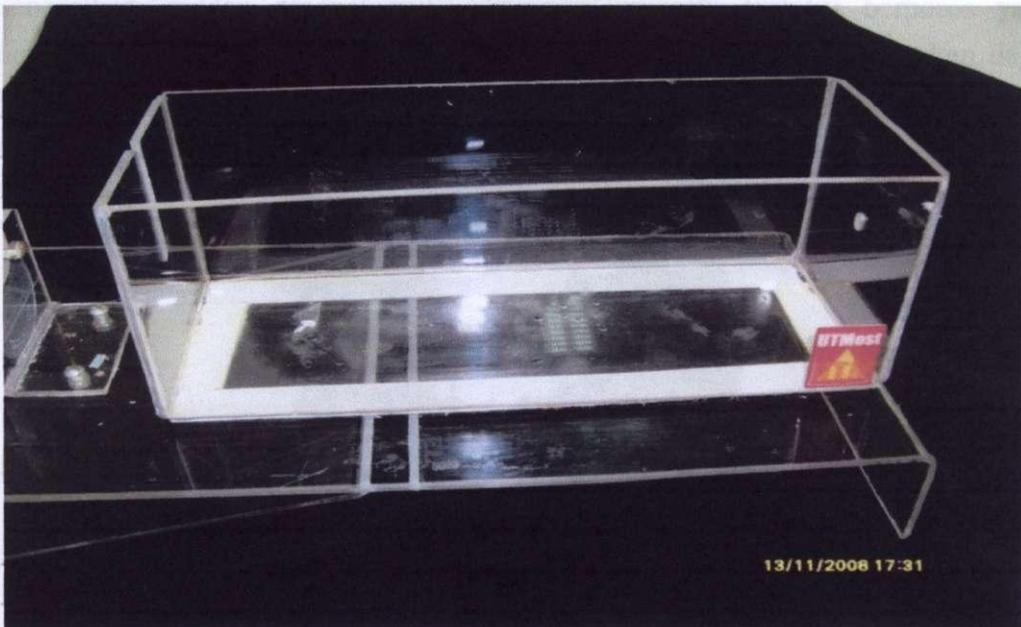
Sumber: (Norhaini, 2008)

Gambar 4: Kotak tempat media



Gambar 3: Diagram *Bioreactor Celup*

Kotak (bak medium) terbuat dari *Acrylic (fiber)* yang tembus pandang sehingga memudahkan untuk pengawasan selama waktu fermentasi. Ukuran kotak (bak medium) panjang atau lebar disesuaikan dengan cakram yang akan digunakan. Kotak tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.

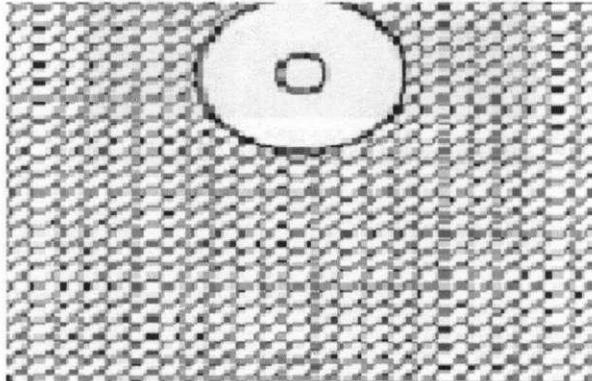


Sumber: (Norhayati, 2008)

Gambar 4: Kotak (tempat medium)

### 2.6.1. Cakram Tempat Tumbuh

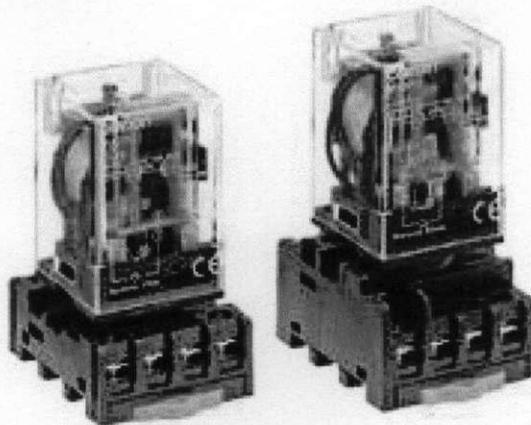
Cakram harus mempunyai ukuran lubang yang sesuai untuk pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dan dapat menghasilkan *Bakterioselulosa* yang baik. Untuk ukuran panjang - lebar cakram disesuaikan dengan kotak medium sehingga dapat memaksimalkan pertumbuhan *A. Cylinum* dan hampir 90% cakram terendam dalam medium. Cakram tempat tumbuh tersebut dapat di lihat pada Gambar 5.



Gambar 5: *Cakram (Casa)* tempat tumbuh

### 2.6.2. Relay

Relay adalah suatu peranti yang menggunakan elektromagnet untuk mengoperasikan seperangkat kontak sakelar. Susunan paling sederhana terdiri dari kumparan kawat penghantar yang dililit pada inti besi. Bila kumparan ini dienergikan, medan magnet yang terbentuk menarik armatur berporos yang digunakan sebagai pengungkit mekanisme sakelar. Relay yang digunakan dapat dilihat pada gambar di bawah ini.

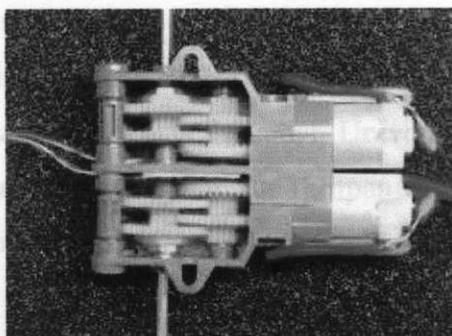


Gambar 6. Relay

**2.6.3. Rangka Kedudukan**

**2.6.4. Timer Digital**

**2.6.5. Motor Elektromagnetik**



**Gambar 7. Motor Elektromagnetik**

2.1. Tempat dan Waktu Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium dan Analisis Hasil Penelitian Widya Kehutanan Simpatika ini dilakukan selama lima bulan Desember 2010.

depan Hasil Penelitian dan Rian, Kampus Sica Pekanbaru. Penelitian sampai dengan bulan

**3.2. Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah biakan mikro *Acetabacter xylosoletus* sakabae, 100, 20, asam asetat glasial, kapur, alkohol 70%, dan akuades. Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, pH meter, jangka sorong, lampu busson, kompor, botol jar, panci stainless steel, Bioreaktor Celup (*Alternate Dip Bioreactor*) yang dirangsang sendiri (prototype rancangan bioreaktor) yang dilengkapi rangkaian sirkuit pewaktu (*timer*), gelas ukur, labung ukur, saringan, kertas koran, karet gelang, selotek, tali rafia, pisau stainless steel, desikator, krus porselen, oven, kertas label, dan lain-lain.

**3.3. Metode Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan secara eksperimen menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial dengan 3 ulangan. Perlakuan terdiri dari 2 faktor yaitu sebagai berikut :

Faktor pertama adalah lama fase terendahnya media (W);

W1 : 5 detik

W2 : 10 detik

W3 : 20 detik

Faktor kedua adalah lama fase di udara (K);

K1 : 5 detik