

BIOSINTESIS SELULOSA OLEH *Acetobacter xylinum* MENGGUNAKAN LIMBAH CAIR TAHU SEBAGAI MEDIA PERTUMBUHAN DENGAN PENAMBAHAN MOLASE

Novi Febrianti

Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Ahmad Dahlan

ABSTRACT

Cellulose is a biopolymer whose numbers most abundant in nature and have an important role as various kinds of industrial raw materials. In this study, liquid waste of soy used as a growth medium for *A. xylinum* bacteria to synthesize cellulose with addition of molasses as carbon source. The aim of this research was to know the effect of different concentrations of molasses on cellulose layer weight and which is the best concentration of molasses that produce the highest weight of cellulose. Three concentration of molasses were tested, namely 2%, 4% and 6%. Observation on layer cellulose weight produced was performed on day-10. The study shows that the more concentrations of molasses is given, the more weight of the layer of cellulose, although this weight difference was not significant. 6% molasses concentration produces the most high cellulose weight.

keywords: cellulose, molase, liquid waste of soy, *A. xylinum*

ABSTRAK

Selulosa merupakan biopolimer yang jumlahnya paling melimpah di alam dan mempunyai peranan penting sebagai bahan baku berbagai jenis industri. Pada penelitian ini digunakan limbah cair tahu sebagai media bagi pertumbuhan bakteri *A. xylinum* untuk mensintesis selulosa dengan penambahan molase sebagai sumber karbon. Ingin diketahui pengaruh perbedaan konsentrasi molase terhadap berat lapisan selulosa dan konsentrasi molase terbaik yang menghasilkan berat selulosa paling tinggi. Diujikan tiga konsentrasi molase, yaitu 2%, 4%, dan 6%. Pengamatan berat lapisan selulosa yang dihasilkan dilakukan pada hari ke-10. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi molase yang diberikan maka semakin besar berat lapisan selulosa yang dihasilkan, walaupun perbedaan berat ini tidak signifikan setelah diuji dengan Anava. Konsentrasi molase 6% menghasilkan berat selulosa yang paling tinggi.

Kata kunci: selulosa, molase, limbah cair tahu, *A. xylinum*

A. LATAR BELAKANG

Selulosa merupakan biopolimer yang jumlahnya paling melimpah di alam. Senyawa ini mempunyai peranan penting sebagai bahan baku berbagai jenis industri. Selulosa dapat digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kertas, bahan baku tekstil, bahan makanan dan juga bahan baku peralatan medis. Secara alami, selulosa diproduksi oleh tumbuhan dan juga kelompok bakteri tertentu. Produksi oleh tumbuhan biasanya membutuhkan biaya yang sangat besar, selain itu penggunaan sumber daya alam ini secara berlebihan dapat membahayakan lingkungan. Selain itu selulosa yang dihasilkan oleh tumbuhan adalah kurang murni berbanding selulosa yang dihasilkan oleh bakteri. Produksi selulosa oleh bakteri menjadi alternatif yang jharus dikembangkan.

Acetobacter xylinum merupakan salah satu jenis bakteri yang dapat menghasilkan selulosa. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif yang dapat menghasilkan lapisan selulosa pada permukaan medium kulturnya. Membran selulosa yang dihasilkan mempunyai kekuatan mekanik dan tingkat kemurniannya yang tinggi. Sifat-sifat inilah yang membuat selulosa berpotensi untuk digunakan sebagai bahan dasar bagi berbagai industri.

Pabrik pembuatan tahu banyak ditemukan di Propinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Pabrik tahu menghasilkan limbah yaitu limbah padat dan limbah cair. Limbah padat digunakan untuk pakan ternak seperti sapi dan babi, sedangkan limbah cair biasanya dibuang begitu saja. Limbah cair tahu sangat berpotensi merusak lingkungan (Darsono, 2007). Bila limbah ini dibuang ke perairan akan menyebabkan gangguan pada ekosistem perairan, mencemari air tanah dan air permukaan juga mengganggu kesehatan masyarakat sekitar (Damayanti, *et al.*, 2004). Limbah cair pabrik tahu sebenarnya dapat dimanfaatkan kembali, antara lain dapat digunakan sebagai pupuk dan biogas. Karena kadar bahan organik yang tinggi, limbah cair pabrik tahu juga dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan bakteri. Nisa, *et al.* (2001) telah menggunakan limbah cair tahu sebagai media untuk produksi nata (nama makanan yang berbahan dasar selulosa). Pada penelitian ini limbah cair pabrik tahu juga digunakan sebagai media bagi pertumbuhan bakteri *A. xylinum* untuk mensintesis selulosa.

Bahan sisa dari industri gula banyak dihasilkan selain hasil utamanya. Salah satu bahan sisa yang paling banyak dihasilkan industri gula ialah molase. Molase adalah sejenis sirup berwarna hitam yang merupakan sisa dari proses pengkristalan gula. Molase tak dapat dikristalkan karena mengandung glukosa dan fruktosa yang sulit mengkristal. Menurut Paturau (1982) dalam Mulyanto (2006) molase mengandung



kadar gula sekitar 50%-60%, sejumlah asam amino, dan mineral. Dumbrepatil (2008) menjelaskan bahwa di dalam molase terkandung 40%-60% sukrosa, juga glukosa dan fruktosa dalam konsentrasi yang lebih rendah.

Sumber karbon bagi pertumbuhan *A. xylinum* yang menghasilkan selulosa dapat berasal dari berbagai sumber (Ross, 1991). Pada penelitian yang dilakukan oleh Nisa, *et al.* (2001) & Ratnawati (2007) digunakan sukrosa sebagai sumber karbon. Penelitian ini ingin mencari sumber karbon baru yang lebih murah dengan memanfaatkan bahan yang sudah ada. Sebagai sumber karbon pada penelitian ini digunakan molase yang merupakan produk samping pengolahan tebu dari pabrik gula Madukismo, Yogyakarta.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat eksperimental yang akan menguji pengaruh berbagai konsentrasi molase terhadap berat lapisan selulosa yang dihasilkan.

1. Pengambilan limbah cair pabrik tahu

Limbah cair pabrik tahu diambil dari pabrik tahu yang berlokasi di Dusun Demangan Gunungan, Pleret, Pleret Kabupaten Bantul Daerah Istimewa Yogyakarta. Limbah diambil sebanyak 20 liter dan ditempatkan di jerigen.

2. Pengambilan molase

Molase diambil dari Pabrik Gula Madukismo Bantul sebanyak 3 liter dan ditempatkan di jerigen.

3. Produksi selulosa oleh *Acetobacter xylinum*

Limbah cair pabrik tahu direbus sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam loyang plastik masing-masing sebanyak satu liter. Ke dalam loyang tersebut lalu dimasukkan molase dengan berbagai konsentrasi, yaitu 2%; 4%; 6 %. Selain itu juga ditambahkan amonium sulfat sebanyak 0,5%, $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ 0,5%, dan asam cuka secukupnya untuk menjadikan pH berkisar 3-5. Pada setiap perlakuan dilakukan empat kali ulangan. Campuran tersebut kemudian dibiarkan menjadi dingin, lalu kultur cair *Acetobacter xylinum* sebanyak 1/10 larutan kemudian dimasukkan. Loyang plastik kemudian ditutup dengan kertas koran dan diikat dengan karet gelang. Inkubasi dilakukan selama sepuluh hari pada suhu kamar. Setelah sepuluh hari lapisan selulosa yang terbentuk pada permukaan media dikeluarkan dari loyang. Lapisan tipis yang berada di bawah lapisan selulosa dibuang. Setelah itu dilakukan penimbangan berat lapisan selulosa yang terbentuk.

4. Analisis Data

Data berat lapisan selulosa yang dihasilkan dirata-rata. Bila terdapat perbedaan akan dilakukan analisis Analysis of Variance (Anova) untuk mengetahui apakah perbedaan itu nyata atau tidak, bila perbedaannya nyata dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference (LSD)* untuk mengetahui letak beda nyatanya.

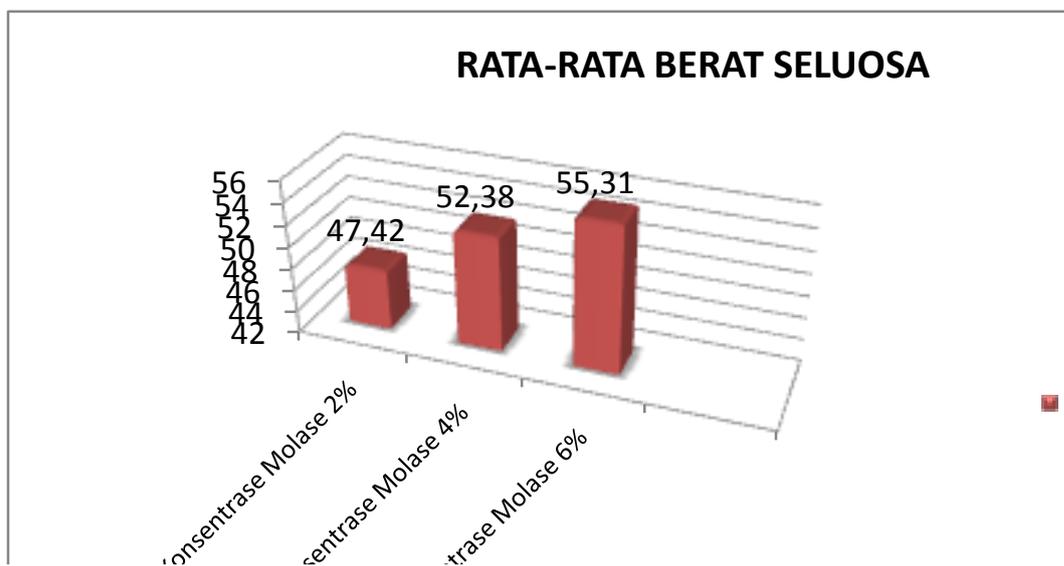
C. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis selulosa oleh bakteri *Acetobacter xylinum* dipengaruhi oleh beberapa hal, antara lain pH, suhu, kandungan oksigen dan konsentrasi karbon yang digunakan. Konsentrasi karbon ialah salah satu faktor utama yang menentukan dalam sintesis selulosa. Berikut adalah berat selulosa yang dihasilkan oleh *A. Xylinum* pada berbagai konsentrasi molase (Tabel 1).

Tabel 1. Berat selulosa pada berbagai konsentrasi molase

Konsentrasi molase	Berat selulosa (gr)	Total (gr)	Rata-rata (gr)
2 %	75,78	189,692	47,42
	23,50		
	90,41		
	0		
4 %	76,77	209,51	52,38
	50,07		
	80,31		
	2,36		
6 %	101,65	221,24	55,31
	90,52		
	29,07		
	0		





Gambar 2. Grafik Rata-Rata Berat Selulosa pada Berbagai Konsentrasi Molase

Dari Tabel 1 dan Grafik 1 terlihat perbedaan rata-rata berat selulosa yang dihasilkan pada berbagai konsentrasi molase. Rata-rata berat yang dihasilkan pada konsentrasi molase 2% adalah 47,42 gram; konsentrasi molase 4% ialah 52,38 gram; dan konsentrasi molase 6% ialah 55,31 gram. Hasil tersebut menunjukkan adanya peningkatan rata-rata berat selulosa sejalan dengan kenaikan konsentrasi molase yang digunakan. Kemungkinan bahwa peningkatan konsentrasi akan meningkatkan ketersediaan substrat karbon, sehingga bakteri mempunyai nutrisi yang lebih baik untuk pembentukan selulosa. Namun demikian pengujian secara statistik menggunakan Anova tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara pemberian ketiga konsentrasi molase tersebut dibandingkan kontrol.

Molase atau dikenal juga dengan tetes tebu adalah produk samping industri pengolahan gula yang masih mengandung beberapa bahan yang berguna. Menurut Paturau (1982) dalam Mulyanto (2006) molase mengandung kadar gula sekitar 50% - 60%, sejumlah asam amino, dan mineral. Dumbrepatil (2008) menjelaskan bahwa didalam molase selain terkandung 40%-60% sukrosa, juga glukosa dan fruktosa dalam konsentrasi yang lebih rendah. Hal ini dapat menjelaskan bahwa molase yang mengandung bahan-bahan sumber karbon ini akan digunakan oleh bakteri *A. xylinum* untuk pertumbuhan dan sintesis selulosa. Semakin besar konsentrasi selulosa yang diberikan akan meningkatkan produksi selulosa.

Proses sintesis selulosa diawali oleh pemecahan sukrosa oleh enzim sukrase. Sukrosa akan dipecah menjadi glukosa dan fruktosa. Glukosa inilah yang akan digunakan sebagai bahan baku dalam sintesis selulosa. Proses fermentasi sukrosa melibatkan mikroorganisme yang dapat memperoleh energi dari substrat sukrosa dengan melepaskan karbondioksida dan produk samping berupa senyawa alkohol.

Sintesis selulosa oleh *A. xylinum* dilakukan melalui serangkaian proses perubahan yang menggunakan glukosa sebagai substratnya. Menurut Seumahu (2005) awalnya glukosa akan diubah menjadi glukosa-6-fosfat oleh glukosa kinase. Glukosa-6-fosfat selanjutnya diisomerisasi oleh fosfoglukomutase menjadi glukosa-1-fosfat yang kemudian dikonversi menjadi uridine 5'-difosfat glukosa (UDPG) oleh UDPG pirofosforilase. Akhirnya UDPG dipolimerasi menjadi selulosa oleh selulosa sintase.

Selain sebagai sumber karbon, penggunaan medium yang berbasis molase juga memberikan keuntungan lain, yaitu dapat mengatur pH. Penelitian Dumbrepatil (2008) mendapatkan bahwa medium berbasis molase dapat meningkatkan produksi asam laktat karena dapat menjaga pH di atas 5,3 sehingga proses fermentasi berlangsung lebih cepat.

Menurut Scramm (1954) faktor utama yang mempengaruhi produksi selulosa oleh *A. xylinum* adalah tekanan oksigen pada permukaan kultur. Oksigen pada lapisan permukaan akan meningkatkan massa sel dan enzim pembentuk selulosa sehingga akan terjadi kenaikan produksi selulosa. Pada penelitian ini kondisi permukaan kultur sudah dibuat aerob dengan cara menutupinya dengan kertas koran, sehingga udara tetap dapat masuk melalui pori-pori kertas..

Untuk mengetahui apakah perbedaan rata-rata berat lapisan selulosa yang diproduksi *A. Xylinum* pada konsentrasi molase yang berbeda secara signifikan atau tidak, maka dilakukan analisis variansi (anova) (Tabel 2).

Tabel 2. Analisis Variansi Rata-Rata Berat Lapisan Selulosa pada Taraf Signifikansi $\alpha=0,05$

Sumber Keragaman (SK)	Jumlah Kuadrat (JK)	Derajat bebas (dB)	Kuadrat Tengah (KT)	F hitung	F tabel
Rata-rata kolom	127.1523	2	63.57616	0,03	4,26
Galat	16490.42	9	1832.269		
Total	16617.57	11			

Berdasarkan analisis variansi dua jalur yang dilakukan didapatkan, hasil F hitung < F tabel atau 0,03 < 4,26, berarti H_0 diterima pada taraf signifikansi (α) 5%. Dengan demikian disimpulkan bahwa perbedaan konsentrasi molase tidak menghasilkan perbedaan signifikan terhadap rata-rata berat lapisan selulosa. Hasil ini berbeda dengan hasil penelitian Sulisty, *et al.*(2010) yang bervariasi gula pasir dan molase sebagai sumber karbon. Hasil yang mereka dapatkan adalah variasi konsentrasi molase dan gula akan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap berat lapisan selulosa yang dihasilkan. Berat selulosa yang dihasilkan dengan menggunakan molase sebagai sumber karbon hampir sama dengan berat selulosa dengan gula sebagai sumber karbon. Perbedaan hasil ini mungkin disebabkan perbedaan konsentrasi molase yang digunakan dan adanya campuran gula sebagai sumber karbon pada penelitian Sulisty *et al.* (2010). Kemungkinan lain ialah adanya perbedaan pada faktor-faktor lain selain sumber karbon yang dapat mempengaruhi produksi selulosa karena pembentukan selulosa dipengaruhi oleh berbagai faktor. Faktor-faktor ini ada yang mempengaruhi secara sendiri-sendiri ada yang mempengaruhi secara sinergi (Kesk, 2005; Ramana *et al.*, 2000). Menurut Muhammad *et al.* (2005), selain kadar gula, pH merupakan faktor penting yang menentukan pembentukan selulosa oleh bakteri.

D. SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Perbedaan konsentrasi molase akan mempengaruhi berat lapisan selulosa yang dihasilkan, semakin tinggi konsentrasi molase maka semakin berat selulosa yang dihasilkan.
2. Konsentrasi molase 6% menghasilkan berat lapisan selulosa tertinggi yaitu rata-rata sebesar 55,31 gr

Saran

Penelitian ini telah menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi molase akan meningkatkan berat selulosa yang dihasilkan. Walaupun peningkatan ini secara statistik tidak signifikan, hal menunjukkan adanya potensi untuk penggunaan molase sebagai sumber karbon dalam produksi selulosa. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh faktor-faktor lain, seperti lama inkubasi, ketinggian media, konsentrasi ammonium sulfat dan urea terhadap berat lapisan selulosa yang dihasilkan. Faktor-faktor ini perlu diteliti untuk dapat dioptimasi dengan tujuan menghasilkan peningkatan produksi selulosa secara signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Darsono, V. 2007. Pengolahan Limbah Cair Tahu Secara Anaerob Dan Aerob. *Jurnal Teknologi Industri* 11(1): 9-20
- Dumbrepatil A, M. Adsul, Chaudhari, J. Khire, & Gokhale, 2008, Utilization of Molasses Sugar for Lactic Acid Production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* Mutant Uc-3 in Batch Fermentation, *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 74, No. 1 p. 333-335
- Keshk, S.M.A.S., & Sameshima, K. 2005. Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production African. *Journal of Biotechnology* 4 (6): 478-482
- Kostenbauder, M.J., S. W. Coleman, C. C. Chase Jr., W. E. Kunkle, M. B. Hall, and F. G. Martin, 2007, Intake and Digestibility of Bahiagrass Hay by Cattle that are Supplemented with Molasses or Molasses-Urea with or without Soybean Hulls, *The Professional Animal Scientist* 23:373–380
- Muhamad, Idayu, I., Talib, A., Zalita, Z., Abdullah, Zailani, M., a Mahat, M. Khairizal, Sian., H.K. 2005. *Improve Production of Microbial Cellulose by Acetobacter xylinum with Addition of Microparticles in Synthetic and Complex Media under Shaking Culture Conditions*. International seminar on Natural and chemical engineering. Universiti Malaysia Sabah.
- Ramana, K.V., A. Tomar and Lokendra Singh. 2000. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*, *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 16 (3): 245-248



- Ross, P., R. Mayer and M. Benziman, 1991, Cellulose Biosynthesis and Function in Bacteria, *Microbiological Review*: 35-38.
- Schramm M. & S. Hestrin, 1954, Factors affecting Production of Cellulose at the Air/ Liquid Interface of a Culture of *Acetobacter xylinum*, *Journal of General Microbiology* 11, 123-129
- Seumahu, C.A. 2005. *Analisa dinamika populasi bakteri selama proses fermentasi nata de coco menggunakan Amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA)*. Program Studi Bioteknologi. Sekolah Pasca Sarjana Insitut Pertanian Bogor. Indonesia. Tesis Master. Tidak dipublikasi.

