

# PENGARUH KEMASAN DAN LAMA PENYIMPANAN *Acetobacter* sp. RMG-2 DALAM BAHAN PEMBAWA TERHADAP POPULASI DAN PRODUKSI BIOSELULOSA DENGAN KONSENTRASI INOKULUM TERBATAS

Ruth Melliawati dan Nuryati

Pusat Penelitian Bioteknologi, Jl. Raya Bogor KM 46, Cibinong 16911, Bogor  
Email: ruthmell2000@yahoo.com

## ABSTRACT

*Bioselulosa or nata de coco is one food product that contains 25% fiber, which is very useful to support health, especially the digestive system. Along with the development of science and technology, raw material for making nata de coco become increasingly diverse as well as developing its usefulness for the wider interests. Inoculum became one of the things that are important in nata production process is also a determinant of product quality. This research was conducted to obtain information about the packaging is good for storing inoculum Acetobacter sp. RMG-2 in the carrier material and the efficiency of inoculum for the production bioselulosa. Two kinds of containers (straws and plastic bags) with two kinds of carrier material (cellulose pulp and CMC) are used. Storage of inoculum carried out for 20 weeks at 4° C. The measured parameter is the number of population, wet weight, dry weight and thickness as well bioselulosa pesentase minimal inoculum for the manufacture bioselulosa. Result, the inoculum in the CMC are packed using a straw is better than the plastic bag packaging, with a population of Acetobacter sp RMG-2 at  $4.53 \times 10^8$  cells/ml, while in the plastic bag packaging population reached  $3.5 \times 10^7$  cells/ml, respectively during storage was 20 weeks (five months). Bioselulosa production uses between 1–15 ml inoculum in 1250 ml of medium/tray of wet weight data obtained vary. With 1 ml of inoculum produced an average wet weight of 725 grams with a thickness of 0.6 cm. Research on the percentage of inoculum between 0.1 to 1.0%, showing that the use of 0.1% (in the CMC carrier materials for 8 weeks) can still be used for production with the average bioselulosa/100 ml of medium weight 31.45 grams wet, 1.6 g dry weight and thickness of 0.8 cm during the 7 days incubation.. Investigation was still continuing to be carried out to get optimal results.*

**Key words:** *Acetobacter* sp. RMG-2, packaging inoculum, The population, the percentage of inoculum

## PENGANTAR

Nata de coco atau bioselulosa merupakan salah satu produk pangan yang sudah dikenal masyarakat. Beberapa tahun terakhir ini kebutuhan nata de coco terus meningkat. Meningkatnya jumlah kebutuhan nata de coco membuktikan bahwa nata de coco semakin banyak digunakan dan dimanfaatkan. Diketahui bahwa kandungan serat dalam nata de coco adalah 25 gr dalam 100 gr bahan, serat yang terkandung di dalamnya sangat berguna untuk menunjang kesehatan, terutama sistem pencernaan.

Pada awal kemunculannya, nata hanya dibuat dari air kelapa namun seiring dengan perkembangan ilmu dan teknologi, bahan baku untuk membuat nata de coco semakin beragam. Sampai saat ini, nata dapat dibuat dari *whey* tahu, buah semu jambu mete, *pulp* kakao, lidah buaya, nanas, limbah air cucian beras dan banyak lagi. Berkembangan bahan baku yang dapat digunakan, maka produk nata dapat dibuat lebih leluasa artinya tidak tergantung pada air kelapa saja. Komponen yang berperan dalam membentuk nata (bioselulosa) dari bahan baku tersebut adalah gula, asam

organik, dan mineral yang diubah menjadi selulosa sintetik oleh *Acetobacter xylinum*.

Pengrajin nata de coco berkembang dengan pesat dan penyebarannya semakin luas dari barat sampai ke bagian timur Indonesia, akibatnya kebutuhan bibit menjadi meningkat. Akan tetapi, hal tersebut tidak menjadi hambatan karena bibit nata de coco murni tersedia di Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong.

Kebutuhan produk nata de coco tidak hanya terbatas di dalam negeri, tetapi untuk keperluan ekspor. Bagi pengrajin atau pengusaha nata pemula ataupun yang sudah lama, banyaknya permintaan konsumen terhadap produk nata merupakan kesempatan dan prospek yang baik, namun produk yang dihasilkan belum memenuhi kebutuhan. Sementara prospek ekspor nata masih sangat terbuka lebar, terutama apabila mampu bersaing memasuki pasar ekspor ke Jepang, yang merupakan negara pengimpor nata terbesar. Penggunaan nata di Jepang sebanyak 80% adalah untuk industri elektronik. Hal ini merupakan nilai tambah bagi nata de coco sebab tidak hanya dikonsumsi sebagai makanan tetapi untuk keperluan yang lebih besar.

Seperti telah diketahui bahwa produk nata dapat digunakan untuk berbagai macam keperluan. Salah satu produknya, yaitu kristalin murni sangat penting untuk bahan baku industri (Yamanaka, 1989), sebagai bahan material baru untuk digunakan dalam memproduksi kertas berkualitas (Johnson dan Winslow, 1990). Disamping itu, dapat digunakan sebagai bahan aditif (Cannon dan Anderson, 1991) dan baik digunakan untuk diet dan sebagai makanan penutup. Uji coba lainnya, bioselulosa dibuat sebagai kulit buatan (Fontana *et al.*, 1990), dan sebagai membran ultra filtrasi (Takai *et al.*, 1991).

Berkembangnya industri/pengrajin nata de coco tidak selalu diikuti dengan keberhasilannya dalam proses produksi. Salah satu kunci utama bagi keberhasilan setiap industri termasuk industri nata de coco adalah penguasaan teknik/proses produksi. Keunggulan teknik mulai dari seleksi bakteri, penyiapan inokulum/bibit, penanganan medium untuk pembuatan nata de coco sampai kondisi selama inkubasi berlangsung merupakan faktor penentu produk yang dihasilkan. Aspek penting lainnya adalah efisiensi dari setiap unsur di dalam proses produksi tersebut karena merupakan bagian penting dalam penentuan biaya produksi, yang akhirnya dapat menjadi penunjang utama dalam persaingan mutu dan harga nata de coco di pasaran. Efisiensi proses produksi selain dengan menentukan komposisi medium yang sesuai, dengan memperhatikan ketersediaan bahan penyusun medium tersebut dan juga efisiensi jumlah inokulum yang digunakan ke dalam medium sehingga tidak mengganggu kelancaran proses produksi.

*Acetobacter sp.* RMG-2 merupakan bakteri koleksi Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, yang sudah banyak diteliti. Kajian tentang bahan pembawa untuk meningkatkan kualitas inokulum pasta nata de coco oleh *Acetobacter sp.* RMG-2 telah dilakukan, hasilnya menunjukkan bahwa Carboxy Methyl Cellulose (CMC) dan Bubur Selulosa (BS) lebih baik dari kedua bahan pembawa yang lain (Melliawati, 2008).

Dalam penelitian ini, dipelajari pengaruh lama penyimpanan bakteri *Acetobacter sp.* RMG-2 dalam 2 macam kemasan (sedotan dan kantong plastik) dan dalam 2 macam bahan pembawa (CMC dan BS). Selain itu, dipelajari jumlah minimal bibit/inokulum yang diinokulasikan ke dalam medium untuk mendapatkan hasil bioselulosa yang optimal.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Mikroorganisme

*Acetobacter sp.* RMG-2 yang digunakan dalam penelitian merupakan koleksi Pusat Penelitian Bioteknologi

### Persiapan Medium dan inokulum

Medium untuk starter dikutip dari Rosario dalam Yusuf dan Suwanto (1982). Disiapkan medium cair dalam Erlenmeyer 500 ml yang berisi 200 ml, setelah disterilisasi dibiarkan sampai dingin, kemudian diinokulasi oleh *Acetobacter sp.* RMG-2. Medium diinkubasi selama 72 jam pada inkubator yang dilengkapi dengan pengocok. Disiapkan bahan CMC 4% dan BS yang sudah disterilisasi. Campurkan kultur yang sudah ditumbuhi *Acetobacter* ke dalam bahan pembawa masing masing dengan perbandingan 1:1, aduk merata sampai homogen. Setiap adonan (bahan pembawa yang sudah berisi kultur *Acetobacter sp.* RMG-2) dikemas dalam kantong plastik sebanyak 50 ml/kemasan, juga dikemas dalam sedotan yang diisi kurang lebih 1 ml/sedotan. Kemasan inokulum disimpan pada suhu 4° C. Inokulum yang dikemas dalam sedotan dan kantong plastik diperlihatkan pada Gambar 1A, B, dan C.

### Uji aktivitas dan kemampuan hidup *Acetobacter sp.* RMG-2

Inokulum/starter yang disimpan dengan lama penyimpanan berbeda (1 hari, 1 minggu, dst.) disebar di atas permukaan medium HB dengan cara lebih dulu dilakukan



**Gambar 1.** Inokulum dalam CMC dengan kemasan sedotan (A), dalam kantong plastik dengan bahan pembawa bubur selulosa (B) dan dalam bahan pembawa CMC (C).

pengenceran bertingkat untuk penghitungan populasi bakteri. Uji dilanjutkan terhadap kemampuannya dalam membentuk bioselulosa yang dilakukan dalam nampan plastik ukuran  $40 \times 25$  cm yang diisi 1250 ml medium (inokulum digunakan antara 1–15 ml), juga dilakukan dalam botol selai yang diinokulasi dengan inokulum sebanyak 0,1 ml–1,0 ml/100 ml/botol, ulangan 2 kali. Jumlah botol 40 buah untuk 2 macam perlakuan.

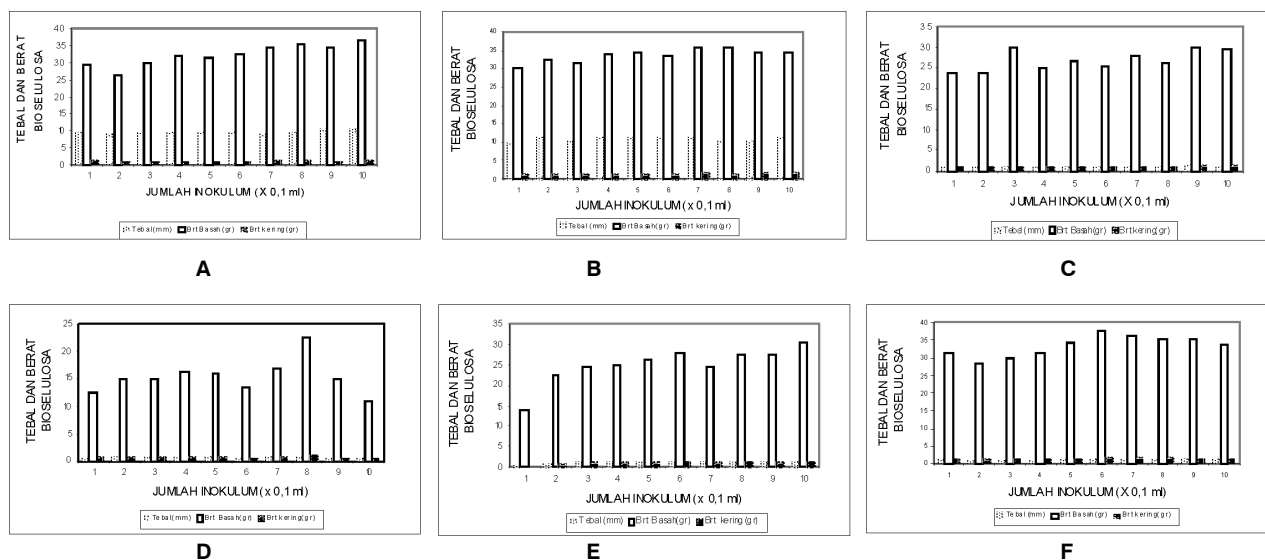
### Parameter yang diukur

Penghitungan jumlah populasi bakteri dari setiap lama penyimpanan didalam 2 macam bahan pembawa. Populasi dihitung melalui pertumbuhan total dalam *Petri disk* dikalikan pengenceran/ml (sel/ml). Diukur tebal, berat basah, dan berat kering bioselulosa dari setiap perlakuan.

## HASIL

**Tabel 1.** Hasil Produksi Bioselulosa dari Perbedaan Jumlah Inokulum yang Dilakukan dalam Nampan Plastik Berisi 1250 ml Medium

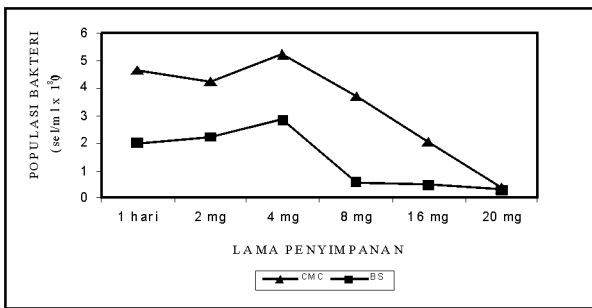
Jumlah inokulum (ml)	Berat bioselulosa (gr)	Berat basah rata rata (gr)
1	800	725
1	650	
2	690	685
2	680	
3	800	785
3	770	
4	880	790
4	700	
5	900	940
5	980	
7.5	900	900
7.5	900	
10	980	990
10	1000	
15	900	925
15	950	



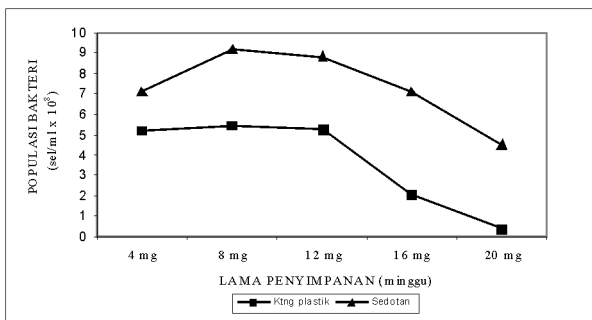
**Gambar 2.** Data hasil panen bioselulosa dari *Acetobacter* sp. RMG-2 dalam bahan pembawa CMC dan BS yang dilakukan pada botol selai isi 100 ml medium.

Keterangan Gambar:

- Data Tebal, berat basah dan berat kering bioselulosa dari inokulum yang disimpan 1 hari pada suhu  $4^{\circ}$  C pada bahan pembawa CMC.
- Data Tebal, berat basah dan berat kering bioselulosa dari inokulum yang disimpan 1 hari pada suhu  $4^{\circ}$  C pada bahan pembawa BS.
- Data Tebal, berat basah dan berat kering bioselulosa dari inokulum yang disimpan 2 minggu pada suhu  $4^{\circ}$  C pada bahan pembawa CMC.
- Data Tebal, berat basah dan berat kering bioselulosa dari inokulum yang disimpan 2 minggu pada suhu  $4^{\circ}$  C pada bahan pembawa BS.
- Data Tebal, berat basah dan berat kering bioselulosa dari inokulum yang disimpan 4 minggu pada suhu  $4^{\circ}$  C pada bahan pembawa CMC.
- Data Tebal, berat basah dan berat kering bioselulosa dari inokulum yang disimpan 8 minggu pada suhu  $4^{\circ}$  C pada bahan pembawa CMC.



**Gambar 3.** Pengaruh lama penyimpanan bakteri *Acetobacter sp.* RMG-2 dalam CMC dan BS pada suhu 4° C terhadap populasi



**Gambar 4.** Populasi bakteri *Acetobacter sp.* RMG-2 dalam CMC pada suhu 4° C yang disimpan dalam kemasan yang berbeda

## PEMBAHASAN

Dilaporkan bahwa *Acetobacter sp.* EMN-1 mampu menghasilkan bioselulosa lebih baik jika medium yang digunakan (air kelapa) disimpan lebih dulu selama 3 hari sebelum dipakai, bioselulosa yang dihasilkan sebesar 778,5 gr/l selama 10 hari pengeraman (Melliawati dkk., 1998). Derajat keasaman (pH) mempengaruhi populasi dan produksi bioselulosa oleh *Acetobacter sp.* EMN-1 dan *Acetobacter sp.* RMG-2 (Melliawati dkk., 2000). Dilaporkan pula bahwa CMC dan bubur selulosa yang digunakan sebagai bahan pembawa *Acetobacter sp.* RMG-2 mampu mempertahankan populasi bakteri, juga mampu memproduksi bioselulosa (Melliawati, 2008). Merujuk dari hasil penelitian sebelumnya, maka penyimpanan mikroba dalam kemasan, efisiensi jumlah inokulum, dan waktu pengeraman perlu dilakukan untuk mengurangi biaya produksi. Pada Gambar 1 diperlihatkan kemasan yang digunakan untuk menyimpan inokulum yang sudah diberi bahan pembawa. Hasil penelitian yang ditunjukkan pada Tabel 1. Jumlah inokulum yang digunakan antara 1–15 ml/nampan/1250 ml medium. Hasil rata-rata dari 2 ulangan terlihat bahwa untuk jumlah inokulum 1–4 ml/nampan diperoleh bioselulosa rata-rata antara 685 gram–790 gram,

sementara untuk jumlah inokulum 5–15 ml hasil bioselulosa rata-rata antara 900–990 gram dalam masa inkubasi selama 7 hari. Hasil ini menunjukkan bahwa jumlah inokulum mempunyai pengaruh terhadap produksi bioselulosa. Dengan kata lain jumlah inokulum/jumlah populasi bakteri berpengaruh terhadap aktivitas bakteri dalam menghasilkan produk bioselulosa. Makin banyak jumlah inokulum/bakteri yang diberikan kedalam suatu medium tertentu, maka makin banyak produk yang dihasilkan dan waktu yang dibutuhkan cenderung lebih sedikit karena mikroba dengan jumlah populasi yang tinggi dalam medium yang terbatas akan menghasilkan produk lebih cepat dan lebih banyak.

Pengujian jumlah inokulum yang lebih kecil (0,1–1,0%) dilakukan dengan menggunakan botol selai/100 ml medium. Hasilnya seperti Gambar 2 (A–F). Pada Gambar 2 A dan B terlihat hasil berat basah, berat kering, dan tebal bioselulosa tidak berbeda nyata antara persentase inokulum yang besar maupun yang kecil, demikian juga antara bahan pembawa CMC maupun bubur selulosa. Kemungkinan bahan pembawa (CMC dan BS) dalam kemasan belum berpengaruh terhadap bakteri *Acetobacter sp.* RMG-2 (umur penyimpanan 1 hari pada suhu 4° C), sehingga kemampuan beraktivitasnya masih tinggi. Pada Gambar 2 C dan D dengan lama penyimpanan inokulum 2 minggu, hasilnya terlihat ada perbedaan terutama bila inokulum yang digunakan dalam bahan pembawa bubur selulosa (2 D). Hasilnya menurun dibanding dengan lama penyimpanan inokulum 1 hari. Sementara itu, pada penyimpanan 4 minggu berat basah bioselulosa tertinggi dicapai 30,4 gram (pada inokulum 1% dalam CMC), sedangkan dalam bahan pembawa bubur selulosa dicapai 23,8 gram (0,3% inokulum). Pada inokulum penyimpanan 8 minggu, diperoleh berat basah bioselulosa 37,9 gram (pada inokulum 0,6% dalam CMC), sementara dalam bubur selulosa dicapai 15,8 gram (0,9% inokulum). Dari data tersebut dapat dikatakan bahwa inokulum dalam bahan pembawa CMC lebih baik dari pada dalam bubur selulosa. Persentase inokulum dan lamanya penyimpanan mempunyai pengaruh terhadap produksi bioselulosa. Pada Gambar 3 diperlihatkan populasi bakteri *Acetobacter sp.* RMG-2 selama penyimpanan 20 minggu dalam kedua macam bahan pembawa (CMC dan BS), yang dikemas pada kemasan yang sama (kantong plastik) dan disimpan pada suhu 4° C.

Populasi bakteri pada penyimpanan 1 hari dalam bahan pembawa CMC dicapai  $4,64 \times 10^8$  sel/ml sedang dalam BS dicapai  $1,98 \times 10^8$  sel/ml, jumlah populasi bakteri tidak banyak berbeda dari kedua bahan pembawa. Sementara itu pada lama penyimpanan 4 minggu terlihat

jumlah populasi meningkat, hal ini kemungkinan karena cara pengambilan sampel yang kurang homogen sehingga terlihat ada peningkatan populasi. Pada lama penyimpanan minggu ke-8, populasi menurun dan penurunan populasi diikuti oleh lama penyimpanan 16 minggu, masing masing dicapai  $2,06 \times 10^8$  sel/ml (CMC) dan  $5,15 \times 10^7$  sel/ml (BS). Pada lama penyimpanan 20 minggu terlihat penurunan populasi dari kedua bahan pembawa baik di dalam bahan pembawa CMC maupun BS. Populasi bakteri masing masing dicapai  $3,5 \times 10^7$  sel/ml (CMC) dan  $3,3 \times 10^7$  sel/ml (BS). Populasi bakteri kemungkinan besar akan menurun terus dan pada akhirnya bakteri akan mati, hal ini sangat alami karena kondisi sangat terbatas. Seperti diketahui bahwa bakteri kelompok asam asetat dapat mengoksidasi etanol menjadi asam asetat dan laktat dan selanjutnya menjadi carbon dioksida dan air (De Ley *et al.*, 1984). Jadi dengan kondisi yang terbatas ditambah dengan derajat keasaman (pH) di dalam kemasan kemungkinan semakin rendah, maka kehidupan bakteri terganggu, populasi akan menurun dan akhirnya bakteri akan mati. Dilaporkan bahwa pertumbuhan mikroba semakin lambat disebabkan adanya hasil metabolisme yang mungkin beracun sehingga dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Fardiaz, 1988). Hal itu terjadi bila proses fermentasi dalam kondisi normal, tetapi apabila dalam kondisi terbatas seperti yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu mikroba dikemas dalam sedotan dan kantung plastik dengan ruang gerak serta kondisi (medium) yang terbatas, maka jelas bukan pertumbuhan mikroba yang terjadi melainkan proses kematian, hanya sampai kapan mikroba itu mampu bertahan hidup, masih perlu diteliti.

Sementara itu untuk melihat kemampuan hidup bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 yang disimpan dalam waktu yang sama (20 minggu), dalam bahan pembawa yang sama (CMC) tetapi dalam kemasan yang berbeda (kantung plastik dan sedotan), diperlihatkan pada Gambar 4. Terlihat bahwa populasi bakteri dalam kemasan sedotan lebih tinggi dibandingkan dengan dalam kantung plastik. Hal ini kemungkinan karena jenis plastik yang berbeda yang berpengaruh terhadap kondisi di dalamnya. Populasi bakteri pada minggu ke-4 terlihat tidak banyak berbeda antara kedua kemasan tersebut, yaitu  $5,21 \times 10^8$  sel/ml dalam kantung plastik dan  $5,98 \times 10^8$  sel/ml dalam sedotan, pada minggu ke-8, populasi meningkat dan penurunan populasi terjadi sejak minggu ke-12 dan pada minggu ke-16 tercatat  $2,06 \times 10^8$  sel/ml (dalam kantung plastik) dan  $7,16 \times 10^8$  sel/ml (dalam sedotan). Pada minggu ke-20 populasi makin menurun dan tercatat masing-masing  $3,5 \times 10^7$  sel/ml dan  $4,53 \times 10^8$  sel/ml. Perbedaan ini kemungkinan selain kondisi

terbatas, juga disebabkan karena perbedaan jenis plastik pada kemasan sehingga untuk kemasan kantong plastik dengan pori-pori yang kemungkinan lebih besar dari pori-pori sedotan, mungkin masih terjadi transformasi oksigen sehingga terjadi reaksi oksidasi yang menghasilkan  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$ , akibatnya inokulum pasta dalam kantung plastik menjadi agak cair karena selain ada  $\text{H}_2\text{O}$  juga terbentuk asam, sementara bibit di dalam sedotan masih relatif agak kental.

## KESIMPULAN

Inokulum dalam bahan pembawa CMC yang dikemas menggunakan sedotan lebih baik dari pada dalam kemasan kantung plastik, dengan jumlah populasi bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 sebesar  $4,53 \times 10^8$  sel/ml (penyimpanan 20 minggu). Bioselulosa dihasilkan rata-rata 725 gram berat basah dan tebal 0,6 cm bila menggunakan 1 ml inokulum/1250 ml medium/nampam. Inokulum 0,1% dalam bahan pembawa CMC selama penyimpanan 8 minggu pada suhu  $4^\circ \text{C}$ , dapat menghasilkan bioselulosa dengan hasil rata-rata 31,45 gram berat basah, 1,6 gram berat kering dan tebal 0,8 cm dalam 100 ml medium. Pengkajian masih terus dilakukan untuk mendapatkan hasil yang optimal.

## KEPUSTAKAAN

- Cannon E and Anderson SM, 1991. Biogenesis of bacterial cellulose. *Critical Reviews in Microbiology*. 17: 435–447.
- Fardiaz E, 1988. *Fisiologi Fermentasi*. PAU IPB dan Lembaga Sumber Daya Informasi IPB. Bogor
- Fontana JD, Souza AM, Fontana CK, Torriani IL, Moreschi JC, Gallotti BJ, Souza SJ, Narcisco, GP, Bichara JA, and Farah LFX, 1990. *Acetobacter* cellulose pellicle as a temporary skin substitute. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 24-25: 253–264.
- De Ley J *et al.*, 1984. *Family VI. Acetobacteriaceae in : N.R. Kreig and J.G. Holt (Eds). Bergey's Manual of Systematics Bacteriology, Vol. 1.* Baltimore: Williams and Wilkins, Co. 267–278.
- Johnson DC and Winslow AR, 1990. Bacterial cellulose has potential application as new paper coating. *Pulp and Paper news*, pp. 105–107.
- Jusuf A dan A Suwanto, 1982. *Mempelajari Pembuatan Nata de coco di CV Tunas Sari, Bogor*. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB. Bogor
- Melliawati R, NR Prayitno dan E Sukara, 1998. Pengaruh cara sterilisasi dan jenis air kelapa terhadap produksi bioselulosa oleh *Acetobacter* sp. EMN-1. *Prosiding Simposium Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Bandar Lampung, Desember hlm. 557–565.

- Melliawati R, F Octavina, dan Masrih, 2000. Pengaruh derajat keasaman media terhadap pertumbuhan sel dan pembentukan selulosa oleh *Acetobacter* sp. EMN-1 dan RMG-2. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi III*. Cibinong, 7-9 Maret 2000, hal. 565–572.
- Melliawati R, 2008. Kajian bahan pembawa untuk meningkatkan kualitas inokulum pasta nata de coco. *Jurnal Biodiversitas* 9 (4): 255–258
- Takai M, Nonomura F, Inukai T, Fujiwara M, and Hayashi J, 1991. Filtration And Permeation Characteristics Of Bacterial Cellulose Composite. *Sen'i Kaghaishi* 47: 119–129
- Yamanaka S, 1989. In "*Cellulosics Utilization-Research and Rewards in Cellulosics*," ed. by H. Inagaki and G.O. Phillips, Elsevier/North-Holland Publishing Co. Amsterdam, pp. 171–185.