

## **KAJIAN BAKTERI ASAM ASETAT PENGHASIL SELULOSA ENDOGENIK BUAH MASAK DAN EKSOTENIK INOKULUM NATA**

S a r k o n o

Program Pascasarjana, Fakultas Biologi, Universitas Gadjah Mada  
Yogyakarta

### **INTISARI**

Penelitian berjudul kajian bakteri asam asetat penghasil selulosa endogenik pada buah masak dan eksogenik inokulum nata telah dilakukan. Bakteri penghasil asam telah diisolasi dengan menggunakan medium HS yang ditambahkan  $\text{CaCO}_3$  1%. Sebanyak 1.136 isolat bakteri penghasil asam yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling koloni telah berhasil diisolasi dari sampel inokulum nata (509 isolat) dan buah masak (627 isolat). Setelah ditumbuhkan kembali pada medium HS cair ada sebanyak 59 isolat penghasil pelikel. Skrining terhadap pelikel yang dihasilkan menunjukkan bahwa ada 36 isolat yang pelikelnya merupakan selulosa dan berdasarkan uji konfirmasi sebagai bakteri asam asetat diperoleh hasil bahwa 36 isolat ini merupakan anggota bakteri asam asetat (familia *Acetobacteraceae*). Pada tahapan seleksi terhadap isolat BAA penghasil selulosa potensial diperoleh 4 isolat BAA yang mempunyai kemampuan menghasilkan selulosa tertinggi yaitu isolat ANG 32, KRE 65, ANG 29 dan SAL 53. Eksplorasi potensi pertumbuhan dan produksi selulosa pada berbagai kondisi lingkungan yang telah dilakukan terhadap keempat isolat terpilih, yang meliputi sumber karbon, sumber nitrogen, pH awal fermentasi, suhu inkubasi dan konsentrasi inokulum, membuktikan bahwa masing-masing isolat memiliki variasi kondisi lingkungan yang berbeda untuk pertumbuhan dan produksi selulosa optimumnya. Keempat isolat terpilih menunjukkan pertumbuhan dan produksi selulosa optimum dengan metode fermentasi statis daripada metode fermentasi agitatif. Berdasarkan analisis sifat fisikokimiawi yang telah dilakukan terhadap pelikel selulosa, berupa analisis morfologi, analisis permukaan dengan SEM, analisis derajat kristalinitas dengan XRD dan analisis profil gugus fungsi dengan FTIR, diketahui bahwa keempat isolat terpilih memiliki kecenderungan yang sama yaitu selulosa yang diproduksi dengan metode fermentasi statis dan agitatif memiliki sifat fisikokimiawi yang berbeda. Metode fermentasi statis menghasilkan selulosa bakteri yang berupa lembaran tebal sedangkan fermentasi agitatif menghasilkan selulosa bakteri yang berupa pecahan-pecahan selulosa dengan bentuk dominan bulat. Fermentasi statis menghasilkan selulosa dengan anyaman mikrofibril yang padat sedangkan fermentasi agitatif menyebabkan anyaman mikrofibril selulosa menjadi lebih longgar dan membentuk pori-pori yang lebih banyak. Selulosa yang dihasilkan dengan fermentasi statis mempunyai indeks kristalinitas yang lebih tinggi daripada selulosa hasil fermentasi agitatif. Profil gugus fungsi pada selulosa yang dihasilkan dengan fermentasi statis sangat mirip dengan profil gugus fungsi selulosa standar *cellulose mycrocrystalline* (CMC), sehingga selulosa hasil fermentasi statis dapat dinyatakan sebagai suatu membran

selulosa sempurna. Selulosa hasil fermentasi agitatif masih mirip dengan standar CMC tetapi banyak mengalami pergeseran panjang gelombang sehingga merupakan selulosa tidak sempurna. Karakterisasi dan identifikasi telah dilakukan terhadap 36 isolat dengan pendekatan sistematika polifasik, yaitu dengan menerapkan analisis sistematika numerik-fenetik, sistematika kimiawi (profil protein total sel dengan SDS-PAGE) dan sistematika molekular-filogenetik dengan berdasarkan analisis *Sequence* gen 16S rRNA. Berdasarkan karakterisasi dan identifikasi didapatkan sebanyak 7 isolat yang merupakan strain baru (*novel strain*) dan 11 isolat spesies baru (*novel species*) dalam genus *Gluconacetobacter*, serta 5 isolat strain baru dan 5 isolat spesies baru dalam genus *Acetobacter*. Karakterisasi dan identifikasi dengan analisis sistematika polifasik dapat mengungkap identitas, keanekaragaman, hubungan kekerabatan dan status kebaharuan isolat bakteri asam asetat endogenik penghasil selulosa. Hasil penelitian secara keseluruhan menunjukkan bahwa dari penelitian ini telah berhasil diperoleh sejumlah isolat bakteri asam asetat penghasil selulosa potensial yang diduga sebagai strain baru dan spesies baru yang berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai kultur starter dalam industri nata dan menambah keanekaragaman isolat bakteri asam asetat penghasil nata di Indonesia. Selulosa yang dihasilkan dari fermentasi statis dan agitatif mempunyai sifat fisikokimiawi yang berbeda sehingga dapat diterapkan dalam aplikasi yang berbeda sesuai dengan sifat fisikokimiawi yang dibutuhkan.

**Kata kunci:** *Gluconacetobacter xylinus*, selulosa bakteri, fermentasi statis, fermentasi agitatif

## **Study of Cellulose Producing Acetic Acid Bacteria Endogenous Rotten Fruits and Exogenous Nata Inoculum**

S a r k o n o

Graduate Program, Faculty of Biology, Gadjah Mada University,  
Yogyakarta

### **ABSTRACT**

The research on cellulose-producing acetic acid bacteria (AAB) endogenous rotten fruit and exogenous nata inoculum was conducted. Acid-producing bacteria were isolated by Hestrin- Schramm (HS) solid medium supplemented with  $\text{CaCO}_3$  1%. A total of 1,136 isolates of acid-producing bacteria were characterized by the formation of clear zones around the colonies have been isolated from samples of the nata inoculum (509 isolates) and rotten fruits (627 isolates). All of the isolates were grown back in HS liquid medium and there were 59 pellicle-producing isolates. Screening of the pellicles produced showed there were 36 isolates its pellicle was an cellulose and based on confirmatory testing as acetic acid bacteria, the results showed that 36 isolates were the members of acetic acid bacteria (family *Acetobacteraceae*). In the selection process for potential cellulose-producing AAB isolates, obtained four AAB isolates that have the ability to produced the highest cellulose, which were isolates ANG32, KRE65, ANG29 and SAL53. Growth and cellulose production test in a variety of environmental conditions that have been done against four isolates were selected, proved that each isolate required different variations in environmental conditions such as carbon sources, nitrogen sources, initial pH of fermentation, incubation temperature and inoculum concentration for optimum growth and cellulose production. Fourth selected bacteria required the same fermentation method for the optimum growth and cellulose production in static fermentation than the agitated fermentation method. Analysis of physicochemical properties that have been done against bacterial cellulose which include morphological analysis, surface analysis by SEM, degree of crystallinity by XRD and analysis of functional groups profiles by FTIR can be known if the four selected bacteria have the same tendency that static and agitated fermentation method affect the physicochemical properties of cellulose produced. Static fermentation method produced bacterial cellulose in the sheets form, while agitated fermentation produced bacterial cellulose in the form of fragments of cellulose with the spherical dominant form. Static fermentation produced cellulose microfibrils dense webbing while agitated fermentation caused woven cellulose microfibrils become more loose and forming more pores. Bacterial cellulose produced by static fermentation had higher crystallinity index than cellulose from agitated fermentation. Profile of functional groups on the cellulose produced by static fermentation is very similar to the standard cellulose CMC functional groups profile, so that the cellulose of static fermentation can be expressed as a perfect cellulose membrane. While cellulose from agitated fermentation was similar to a standard CMC but many experienced wavelength shift, so it was not perfect cellulose. Characterization and identification has been carried out against 36

isolates by polyphasic systematic approach with applying the numerical-fenetik systematic, chemical systematic (total cell protein profile by SDS-PAGE) and the molecular-phylogenetic systematic analysis based on 16S rRNA gene *Sequences*. Based on the characterization and identification obtained 7 isolates that were new strains (novel strain) and 11 isolates of new species (novel species) in the genus *Gluconacetobacter*, as well as 5 novel strain isolates and 5 novel speciec isolates in the genus *Acetobacter*. The characterization and identification with polyphasic systematic approach can revealed the identity, diversity, close relationship and the novelty status of cellulose-producing acetic acid bacteria isolates. The results of the overall study showed that this research has successfully obtained a number of endogenous potential cellulose-producing acetic acid bacteria that alleged as a new strain and new species that has the potential to be used as starter cultures in nata industry and added the diversity of cellulose-producing acetic acid bacteria in Indonesia. Bacterial cellulose produced by static and agitated fermentation have different physicochemical properties that can be applied in different applications according to the physicochemical properties required.

**Keywords:** *Gluconacetobacter xylinus*, bacterial cellulose, static fermentation, agitated fermentation.