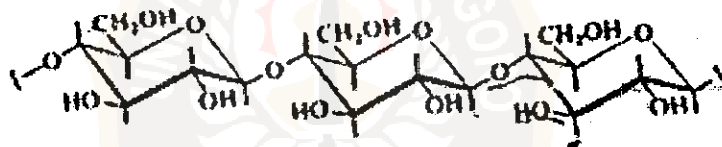


## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Selulosa

Selulosa terdiri atas unit-unit anhidroglukopiranosida yang bersambung membentuk rantai molekul, karena itu selulosa dapat dinyatakan sebagai polimer linear glukosa dengan struktur rantai yang seragam. Unit-unit terikat dengan ikatan  $\beta$ -1,4-glikosida. Dua rantai glukosa yang berdekatan bersatu dengan mengeliminasi satu molekul air di antara gugus hidroksil mereka pada karbon 1 dan karbon 4. Secara tepat unit pengulangan selulosa adalah selobiosa dengan panjang 1,03 nm<sup>[6]</sup>.



Gambar 2.1. Struktur selulosa<sup>[7]</sup>

Stabilisasi rantai-rantai molekul panjang dalam sistem yang teratur yaitu pembentukan struktur supramolekul, ditimbulkan oleh adanya gugus fungsional yang dapat mengadakan interaksi satu dengan lainnya. Gugus-gugus fungsional yang terdapat dalam rantai selulosa adalah gugus-gugus hidroksil, tiga daripadanya terikat pada setiap unit glukosa. Permukaan rantai-rantai selulosa penuh dengan gugus-gugus hidroksil yang bukan hanya menentukan struktur supramolekul tetapi juga sifat-sifat fisik dan kimia selulosa<sup>[6, 8]</sup>.

Gugus-gugus OH molekul-molekul selulosa dapat membentuk dua macam ikatan hidrogen tergantung pada letaknya pada unit-unit glukosa. Terdapatnya

ikatan hidrogen antara gugus OH dari unit-unit glukosa yang berdekatan dalam molekul selulosa yang sama disebut ikatan hidrogen intramolekuler. Ikatan itu memberikan kekakuan tertentu pada masing-masing rantai. Terdapat juga ikatan hidrogen antara gugus-gugus OH dari molekul-molekul selulosa yang berdampingan yang disebut ikatan hidrogen intermolekuler. Ikatan tersebut menyebabkan adanya pembentukan struktur supramolekuler. Ikatan hidrogen tidak hanya ada antara gugus-gugus OH selulosa tetapi juga antara OH-air. Tergantung pada kandungan air, molekul air tunggal atau kelompok air dapat terikat dengan permukaan-permukaan selulosa<sup>[6, 8]</sup>.

Struktur serat selulosa alam yang dikarakterisasi dengan sinar X menunjukkan bahwa berkas-berkas molekul selulosa membentuk agregat bersama-sama dalam bentuk mikrofibril, yang tersusun oleh tempat-tempat yang sangat teratur (kristalin) diselingi dengan tempat-tempat yang kurang teratur (amorf). Mikrofibril membentuk fibril-fibril dan akhirnya serat-serat selulosa. Struktur serat dari selulosa ini memiliki efek terhadap sifat-sifat fisiknya. Jumlah relatif dari bagian amorf dan kristalin dalam serat selulosa mempengaruhi keseimbangan kelembabannya, kekuatan, dan fleksibilitasnya<sup>[9]</sup>.

## 2.2. Bioselulosa

Polisakarida bakteri telah diketahui sejak berabad-abad yang lalu dan informasi mengenai struktur dan sifatnya diteliti pada akhir-akhir dekade ini. Pada akhir abad 18, Brown menemukan suatu organisme yang dapat membentuk suatu membran ketika diinokulasikan dalam suatu medium yang mengandung

karbohidrat seperti D-fruktosa, D-glukosa, atau D-manitol, organisme ini diyakini sebagai bakteri *Acetobacter xylinum* dan membran yang dihasilkan merupakan selulosa dan selanjutnya disebut sebagai bakterial selulosa (bioselulosa). Dan kemudian peneliti yang lain melaporkan mengenai pembentukan bioselulosa dari berbagai organisme yang lain seperti *Acetobacter pasteurianum*, *Acetobacter rancens* dan *Sarcian ventriculi*. Bioselulosa atau biasa disebut bakterial selulosa merupakan selulosa yang dihasilkan dari proses polimerisasi oleh bakteri<sup>[3]</sup>.

Publikasi pertama mengenai pembentukan bioselulosa secara detail dipublikasikan oleh Tarr dan Hibbert. Suatu publikasi eksperimen yang sistematis mengenai pembentukan bioselulosa. Suatu organisme tertentu akan membentuk bioselulosa jika dalam kultur media terdapat sumber karbon. Pembentukan optimum terjadi pada suhu 30 °C sepuluh hari setelah inokulasi. Pembentukan bioselulosa terjadi setelah pada kultur media ditambahkan gula heksosa (5-10 %), anhidrat gula heksosa, D-manitol, D-fruktosa, D-glukosa, D-galaktosa dan D-manosa, yang merupakan gula yang memberikan hasil yang maksimal<sup>[10]</sup>.

Hibbert dan Barsha mengemukakan bahwa bioselulosa terdiri atas sejumlah membran hampir tidak terhingga yang sangat rapat dan dapat menyerap air seratus kali melebihi berat bioselulosa itu sendiri. Berdasarkan kerapatan membran kering bioselulosa menunjukkan ketahanan yang lebih baik daripada selulosa terhadap beberapa zat kimia yang digunakan untuk menentukan strukturnya<sup>[10]</sup>.

Dalam proses biopolimerisasi bioselulosa ini ada beberapa faktor yang berpengaruh terhadap proses biopolimerisasi, yaitu:

1. Faktor inokulum

Inokulum yang akan digunakan sebagai stater harus mengandung mikroba yang produktif. Umur biakan yang digunakan sebagai stater maksimum 3 hari. Larutan stater yang dapat digunakan secara optimum sekitar 10-20 % dari volume media.

2. Faktor kondisi lingkungan fermentasi

Konsentrasi gula yang ditambahkan pada media fermentasi berpengaruh terhadap kadar air, berat, kekenyalan, dan derajat keputihan bioselulosa. Di samping faktor tersebut, faktor sanitasi dan higienitas lingkungan kerja tidak kalah penting mengingat kondisi media fermentasi yang mudah terkontaminasi oleh banyak jenis mikroba dari udara yang dapat menyebabkan penurunan proses biopolimerisasi atau bahkan tidak terjadi sama sekali.

3. Faktor media/ substrat fermentasi

Media yang dipergunakan untuk proses fermentasi harus mengandung semua elemen yang dibutuhkan oleh mikroba dalam pertumbuhannya baik untuk keperluan biopolimerisasi maupun dalam proses metabolismenya.

4. Tingkat keasaman

Bioselulosa terbentuk secara optimal pada pH 5,0 - 5,5. Sedangkan pada pH di bawahnya terbentuk bioselulosa yang tipis dan lunak dan pH di atasnya pertumbuhan bioselulosa menjadi terhambat. Dari percobaan bioselulosa yang tumbuh banyak, tebal dan kokoh pada pH 4-6.

### 5. Temperatur

Temperatur optimal pada pembuatan bioseulosa adalah sekitar 28-31 °C.

### 6. Gula sebagai sumber karbon

Gula yang dapat digunakan adalah dekstrosa, galaktosa, sukrosa, laktosa, maltosa. Tetapi pada maltosa dan laktosa terbentuk bioseulosa yang tipis dan lunak, sementara pada galaktosa terbentuk bioseulosa sangat tipis. Bioseulosa yang paling kokoh dan tebal adalah pada penggunaan dekstrosa dan sukrosa.

### 7. Sumber nitrogen

Penggunaan sumber nitrogen yang paling baik adalah  $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$  disusul  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ .

## 2.3. Nata de Soya

Nata adalah nama yang berasal dari Philipina untuk menyebut suatu pertumbuhan yang menyerupai gel terapung pada permukaan media yang mengandung gula dan asam yang dihasilkan oleh mikroorganisme *Acetobacter xylinum*. Nata berasal dari bahasa Spanyol *nadar* yang berarti berenang, rupanya istilah tersebut diturunkan dari kata latin *natare* yang artinya terapung, sedangkan Soya diambil dari nama tanaman kedelai karena nata de soya dihasilkan dari limbah pembuatan tahu yang bahan bakunya berasal dari kedelai.

Nata merupakan selulosa bakteri yang mengandung air sekitar 98 %, dengan tekstur kenyal, padat, berwarna putih. Biasanya dihidangkan bersama es krim atau buah-buahan (cooktail) sebagai hidangan pencuci mulut. Bakteri pembentuk nata adalah *Acetobacter xylinum* yang termasuk bakteri golongan asam asetat yang mempunyai ciri-ciri: gram negatif, obligat aerob, berbentuk batang, bersifat nonmotil dan tidak membentuk spora. Bakteri ini mempunyai ciri-ciri bundar, cembung, berwarna putih atau merah muda dengan diameter koloni kurang dari 3 mm. Kemudian jika ditumbuhkan pada media yang cocok, akan memproduksi selaput tebal yang mengandung selulosa<sup>[11]</sup>.

*Acetobacter xylinum* mengekskresi selulosa dalam fibril ke dalam media yang kemudian saling berikatan dan memberikan kekokohan seperti kulit. Pada produksi nata de soya, *Acetobacter xylinum* yang ditumbuhkan pada media yang mengandung gula akan memecah komponen gula dan selanjutnya membentuk suatu polisakarida di permukaan media. Polisakarida tersebut dikenal sebagai selulosa ekstraseluler. Senyawa yang berperan dalam biosintesis selulosa tersebut adalah nukleotida glukosa, di mana enzim yang mengkatalisis polimerisasi glukosa menjadi selulosa dengan ikatan  $\beta$ -1,4 membutuhkan akseptor dari unit-unit glukosil. Pembentukan nata terjadi karena proses pengambilan glukosa dari media oleh sel-sel bakteri, kemudian glukosa tersebut digabungkan dengan asam lemak membentuk prekursor pada membran sel. Prekursor ini selanjutnya dikeluarkan dalam bentuk ekskresi dan bersama enzim yang dihasilkan dari bakteri *Acetobacter xylinum* mempolimerisasi glukosa menjadi selulosa di luar sel<sup>[12]</sup>.

## 2.4. Limbah Cair Tahu

Dalam proses pembuatan tahu, kecuali kedelai juga diperlukan air dalam jumlah yang cukup banyak. Sedangkan hasil utama yang selama ini dimanfaatkan untuk pangan adalah tahu yang bentuknya merupakan padatan. Hasil samping yang belum dimanfaatkan secara maksimal adalah limbah padat dan limbah cair.

Selain limbah padat, terdapat limbah cair yang jumlahnya cukup banyak dan memberi andil terhadap pencemaran lingkungan cukup besar. Limbah cair tahu karena masih mengandung bahan-bahan organik yang mudah busuk maka dalam proses selanjutnya akan menimbulkan bau busuk dan mencemari air. Jumlah limbah cair yang dihasilkan dari pengolahan 1 kg kedelai untuk pembuatan tahu dapat mencapai 19 Liter<sup>[4]</sup>.

Adanya masalah pencemaran yang ditimbulkan dari limbah cair tahu dan masih adanya kandungan nutrisi tersebut dapat memungkinkan limbah cair tahu sebagai media pembentukan bioselulosa<sup>[5]</sup>.

Tabel 2.1. Hasil analisis kimia limbah cair tahu<sup>[5]</sup>

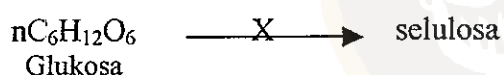
Parameter	Lama penyimpanan limbah cair tahu		
	0 hari	1 hari	2 hari
Keasaman total (%)	3,960	5,480	5,980
Protein (%)	0,680	0,480	0,340
Lemak (%)	0,029	0,020	0,017
Karbohidrat (%)	4,330	3,770	0,710
PH	4,120	3,840	3,800

## 2.5. Biopolimerisasi

Biopolimerisasi merupakan proses polimerisasi suatu senyawa yang dilakukan oleh bakteri/ makhluk hidup lain. Polimerisasi pada umumnya terdiri atas polimerisasi adisi yang melibatkan pemutusan ikatan rangkap dan polimerisasi kondensasi yang selain menghasilkan suatu polimer juga menghasilkan molekul kecil seperti CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O.

Salah satu contoh biopolimerisasi adalah pembentukan selulosa pada tumbuhan tingkat tinggi misal kapas, kapuk, dan tumbuhan berkayu. Pada tumbuhan, selulosa terdapat pada dinding sel bersama-sama dengan protein, lemak dan senyawa lain. Pembentukannya dikontrol oleh sel tumbuhan itu sendiri. Menurut Brown, sintesis selulosa terjadi dalam 2 tahap yaitu tahap polimerisasi (monomer-monomer glukosa berikatan membentuk ikatan glukosida) dan tahap pasca polimerisasi (pembentukan kristal selulosa).

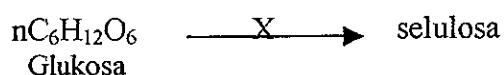
Reaksi yang terjadi:



X merupakan kondisi dalam sel tumbuhan tersebut yang mempengaruhi pembentukan selulosa pada dinding sel.

Selain pada tumbuhan tingkat tinggi, biopolimerisasi selulosa juga terjadi pada bakteri.

Reaksi yang terjadi:





X merupakan kondisi media biopolimerisasi yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri seperti pH, Nitrogen, Carbon, dan temperatur. Biopolimerisasi pada bakteri dipengaruhi oleh kemampuan bakteri untuk mengubah glukosa menjadi selulosa.

## 2.6. Biodegradasi Polimer

Biodegradasi adalah peruraian suatu senyawa karena kerja enzim tertentu yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Proses biodegradasi melewati dua tahapan, yaitu depolimerisasi dan mineralisasi. Depolimerisasi adalah proses pemutusan ikatan polimer menjadi monomer-monomernya. Proses ini terjadi di luar sel dari organisme dan yang melakukannya adalah enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu. Tahapan yang kedua adalah mineralisasi. Produk dari mineralisasi adalah  $\text{CO}_2$ ,  $\text{CH}_4$ ,  $\text{N}_2$ , air, garam, mineral dan biomass.

Dalam merombak substrat mikroorganisme memerlukan waktu untuk beradaptasi dengan substrat baru. Dengan demikian agar polimer mampu terbiodegradasi oleh mikroorganisme, polimer tersebut harus dikondisikan agar di sekitarnya tumbuh mikroorganisme. Pengondisian ini harus sesuai dengan pertumbuhan mikroorganisme yang dipengaruhi oleh pH, suhu, nutrisi, kebutuhan oksigen dan air. Secara umum media yang dipakai adalah tanah karena di dalamnya terdapat berbagai jenis mikroorganisme pengurai. Mikroorganisme yang tumbuh dekat permukaan tanah bersifat aerob di mana untuk melangsungkan metabolisme tubuhnya memerlukan oksigen sebagai akseptor elektron, sedangkan mikroorganisme yang tumbuh jauh dari permukaan tanah bersifat anaerob di

mana akseptor elektron digantikan oleh senyawa lain. Melihat hal ini ada kecenderungan mikroorganisme anaerob lebih mampu menguraikan polimer daripada mikroorganisme aerob<sup>[12]</sup>.

Senyawa organik yang terbuang ke lingkungan akan mengalami beberapa proses penting di antaranya adalah adsorpsi, penguapan, transformasi abiotik (reaksi kimia dan fotokimia) dan biodegradasi. Proses adsorpsi dan penguapan tidak menguraikan tetapi hanya merupakan proses transfer dari satu media ke media lainnya. Transformasi abiotik biasanya memerlukan waktu yang lama seperti reaksi fotokimia yang hanya dapat terjadi pada permukaan yang terkena terpaan sinar matahari. Biodegradasi merupakan potensi terbesar untuk menguraikan kontaminan organik dengan sempurna. Kerja biodegradasi tidak lepas dari peranan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Keuntungan penggunaan mikroorganisme dalam penguraian kontaminan organik adalah bahwa reaksi enzimatik penguraiannya relatif lebih cepat daripada transformasi abiotik dan mineralisasi kontaminan dengan sempurna dapat terjadi<sup>[13]</sup>.

Biotransformasi adalah suatu perubahan atau reaksi kimia yang terjadi karena pengaruh mikroba. Mikroba tumbuh dan memperoleh energi dari oksidasi senyawa organik atau reaksi reduksi senyawa organik/anorganik. Akseptor elektron pada kondisi aerob adalah oksigen dan pada kondisi anaerob adalah nitrat, sulfat, dan CO<sub>2</sub>. Semakin dalam lapisan tanah maka kandungan akseptor elektron digantikan secara berturut-turut oleh nitrat dan sulfat.

## 2.7. Penentuan Tingkat Degradasi

Tingkat degradasi didefinisikan sebagai besarnya perubahan karakter polimer akibat proses degradasi. Ada beberapa cara yang dapat digunakan untuk karakterisasi tingkat degradasi polimer dan sekarang telah ditemukan beberapa alat yang dapat menjawab permasalahan sekitar analisis tingkat degradasi polimer dengan baik. Karakterisasi tingkat degradasi polimer biasanya dibedakan menjadi dua bagian yaitu analisis makroskopik dan mikroskopik. Analisis makroskopik secara kualitatif dapat dilihat melalui terjadinya perapuhan polimer. Analisis mikroskopik dengan menggunakan spektra IR di mana perubahan yang besar pada molekul polimer akibat degradasi dapat diamati pada daerah sidik jari ( $600-1200\text{ cm}^{-1}$ ). Apabila pola spektra IR pada daerah sidik jari sama maka struktur polimer tidak mengalami banyak perubahan dan sebaliknya apabila pola spektra pada daerah sidik jari berbeda maka struktur polimer telah banyak mengalami perubahan akibat degradasi<sup>[15]</sup>.

## 2.8. Spektroskopi IR<sup>[7, 16, 17]</sup>

Spektroskopi IR merupakan teknik analisis yang cukup penting dalam polimer. Spektroskopi IR yang umum digunakan adalah jenis medium (MIR) dengan daerah serapan  $4000-200\text{ cm}^{-1}$ . MIR didasarkan pada getaran molekul/atom yang diindikasikan oleh serapan karakteristik pada frekuensi tertentu sehingga spektra polimer dapat disebabkan karena getaran/ vibrasi dari seluruh makromolekul atau sebagian besar dari makromolekul tersebut. Dalam hal ini, vibrasi dari atom-atom dipengaruhi oleh atom-atom lainnya sehingga

konformasi/struktur kristal polimer sangat mempengaruhi posisi, kekuatan, dan ketajaman dari serapan ikatan yang terjadi.

Pada umumnya MIR digunakan untuk menganalisis dan identifikasi struktur kimia dan perubahannya pada suatu polimer, selain itu dapat juga untuk menentukan taksisitas dari suatu polimer.

Serapan untuk selulosa dan bioselulosa pada daerah  $3700-667\text{ cm}^{-1}$  dan serapan karakteristik pada daerah  $1162-1105\text{ cm}^{-1}$  untuk gugus C-O-C glikosida. Serapannya sebagian lebih tajam dari yang lain pada  $1200-900\text{ cm}^{-1}$ . Sehingga struktur ikatan dan perubahan yang terjadi pada selulosa dan bioselulosa dapat dipelajari dengan MIR. Dalam hal ini dapat digunakan FTIR yang mempunyai serapan sama dengan MIR. Selain itu juga memungkinkan untuk mengetahui apakah telah terjadi transformasi struktur pada perubahan pola spektra. Hal ini dapat dilakukan dengan mengamati pola spektra yang terjadi pada variasi waktu tertentu dan dari pola spektra ini dapat diketahui penambahan/pengurangan suatu gugus fungsi tertentu sebagai fungsi waktu. MIR juga dapat mengetahui keberadaan ikatan hidrogen melalui pelebaran dan ketajaman serapan. Hal ini akan makin mendukung dalam analisis bioselulosa karena dalam bioselulosa banyak terdapat gugus OH dan ikatan hidrogen.

Tabel 2.2. Daerah serapan IR untuk selulosa<sup>[16, 18]</sup>

Daerah serapan ( $\text{cm}^{-1}$ )	Gugus fungsi
3650-3600	OH bebas
3448-3445	OH intramolekuler

---

3350-3175	OH intermolekuler
3275-2933	CH <sub>2</sub> stretching asimetri
2914-2850	CH <sub>2</sub> simetri
1470-1475	OH bending
1440-1430	CH <sub>2</sub> bending
1365-1335	OH bending
1317-1315	CH <sub>2</sub> wagging
1285-1227	CH bending
1257-1200	OH bending
1162-1105	C-O-C stretching simetri
1078-1000	C-O stretching
1045-1005	C-OH stretching
663-650	OH internal bending

---

