

## Analisis Sifat Fisik Bioselulosa Berbahan Dasar Limbah Pulp Kakao

Eka Pratiwi Tenriawaru<sup>1\*</sup>, Pauline Destinugrainy Kasi<sup>1</sup>, Idawati Supu<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Biologi Fakultas Sains Universitas Cokroaminoto Palopo, Kota Palopo, Sulawesi Selatan

<sup>2</sup>Program Studi Fisika Fakultas Sains Universitas Cokroaminoto Palopo, Kota Palopo, Sulawesi Selatan

\*Email korespondensi: epta86@gmail.com

### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui sifat fisik bioselulosa yang diproduksi dengan menggunakan bahan dasar limbah pulp kakao. Sifat fisik yang diamati meliputi berat basah, ketebalan nata, rendemen selulosa, dan struktur selulosa yang dihasilkan. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tiga perlakuan dan masing-masing tiga kali pengulangan. Perlakuan terdiri atas lama penyimpanan pulp kakao (limbah pulp kakao segar, limbah pulp kakao yang disimpan 3 hari, dan limbah pulp kakao yang sudah disimpan 5 hari). Hasil penelitian menunjukkan bahwa limbah pulp kakao yang terbentuk berwarna kuning keruh. Bioselulosa yang paling tebal dan berat basah tertinggi dijumpai pada perlakuan limbah pulp yang disimpan selama 3 hari (1,11 cm dan 446,33 g). Rendemen selulosa tertinggi (31,87%) diperoleh pada limbah pulp segar. Bioselulosa dari limbah pulp kakao terdapat senyawa  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ , dan  $\text{Na}_2\text{O}$ .

Kata kunci: Limbah pulp kakao; Sifat fisik bioselulosa; Lama penyimpanan limbah pulp kakao; Senyawa dalam bioselulosa;

### Abstract

*This study aimed to determine the physical properties of biocellulose produced from cacao pulp waste as the raw material. Physical properties included wet weight, thickness, yield of cellulose, and structure of cellulose. This study used a Completely Randomized Design with three treatments and three replications. The treatment consisted of cacao pulp's time storage (fresh pulp, stored for 3 days, and stored for 5 days). The thickest and heaviest biocellulose was found from the pulp waste that stored for 3 days (1.11 cm and 446.33 g, respectively). Whereas, the highest cellulose yield (31.87 %) was obtained from fresh pulp. The cocoa pulp's biocellulose compounds  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ , dan  $\text{Na}_2\text{O}$ .*

*Keywords: Cacao pulp waste; Physical properties of biocellulose; Time storage of cacao pulp waste; biocellulose compounds;*

### PENDAHULUAN

Selulosa merupakan biopolimer yang secara alami dapat ditemukan di alam. Umumnya selulosa diambil dari tumbuhan. Kekurangan selulosa yang berasal dari tumbuhan adalah mengandung hemiselulosa, lignin, pektin dan banyak senyawa lainnya. Oleh karena itu, untuk mendapatkan selulosa diperlukan purifikasi yang melibatkan banyak bahan kimia. Solusi lain untuk mendapatkan selulosa alami adalah menggunakan bioselulosa. Bioselulosa

merupakan selulosa ekstraseluler murni yang diproduksi oleh beberapa spesies mikroorganisme pada medium yang mengandung senyawa karbon dan bersifat asam [1]. Beberapa mikroorganisme yang dapat menghasilkan selulosa antara lain dari Genus *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, dan *Sarcina* [2].

Bioselulosa mempunyai karakterisasi sifat yang lebih baik dibandingkan dengan selulosa dari tanaman, misalnya

kristalinitas tinggi, derajat polimerisasi yang tinggi, kapasitas mengikat air yang besar dan kekuatan mekanik yang tinggi [3]. Dengan adanya sifat tersebut, bioselulosa dapat diaplikasikan sebagai material alternatif dalam industri kertas, takstil, biomedik (sebagai penutup luka), maupun sebagai pembungkus makanan [1].

Produksi bioselulosa telah dilakukan dengan menggunakan berbagai jenis sumber karbon antara lain glukosa, sukrosa, fruktosa, gliserol, mannitol, dan arabitol [4], [5], [6], [7]. Di samping itu juga dibutuhkan komponen media lainnya seperti asam amino dan garam mineral [2]. Akan tetapi bahan kimia yang digunakan cukup mahal, sehingga perlu dicari alternatif sumber karbon dan sumber nutrisi lainnya.

Perkembangan industri pangan di Indonesia mengakibatkan semakin banyak limbah cair hasil industri. Limbah tersebut jika tidak dimanfaatkan dengan baik akan menjadi tidak terkendali dan menurunkan kualitas lingkungan. Salah satu limbah cair yang telah dimanfaatkan menjadi bahan baku pembuatan bioselulosa adalah air kelapa dengan produk yang lebih dikenal sebagai *nata de coco* [8]. Limbah cair lainnya yang dapat digunakan dalam proses pembuatan nata adalah cairan buah misalnya papaya, aren, timun suri, dan jeruk [9], [10], [11]. Selain itu, nata juga dapat diproduksi dari limbah padat maupun cair yang berasal dari komoditi tertentu, misalnya kulit singkong menjadi *nata de cassava* [12], bonggol tebu untuk membuat *nata de cane* [13], limbah cair nanas untuk menghasilkan *nata de pina* [14] sutanto], limbah cair tahu untuk menghasilkan *nata de soya* [15], dan masih banyak lagi.

Pengolahan buah kakao menjadi bibit kakao kering menghasilkan limbah antara lain cangkang dan pulp kakao. Pulp kakao mengandung senyawa gula yang dimanfaatkan oleh mikroba untuk

pertumbuhannya selama proses fermentasi berlangsung. Limbah kakao yang tidak segera ditangani akan menimbulkan aroma asam dan bau tidak sedap [16]. Melalui penelitian ini ingin diketahui bagaimana sifat fisik bioselulosa yang diproduksi dengan menggunakan bahan dasar limbah pulp kakao. Adapun sifat fisik yang diamati meliputi berat basah, berat kering, ketebalan nata, rendemen selulosa, dan struktur selulosa yang dihasilkan.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pulp kakao segar 3 L, starter (bibit bakteri *Acetobacter xylinum*) 650 mL, asam cuka 120 mL, indicator pH universal, ZA 30 g, dan gula pasir 600 g.

Alat yang digunakan antara lain kompor, panci stainless, saringan, gelas ukur 250 mL, nampan plastik ukuran 2x3 cm sebanyak 10 buah, ember/baskom, karet gelang, kertas koran, plastik bening, penggaris, timbangan analitik, dan botol kultur. Untuk melihat komposisi bioselulosa digunakan SEM-EDS Tescan Vega 3B merk Bruker.

### **Prosedur Kerja**

Buah kakao yang dipanen, dibelah dan diambil bagian daging buahnya. Pulp kakao dilepaskan dari biji kakao, dikumpulkan kemudian diperas. Hasil perasan pulp kakao dikumpulkan sebanyak 3 L dan disimpan dalam botol steril. Limbah cair pulp kakao dibagi tiga untuk masing-masing perlakuan, yaitu P1 (limbah pulp kakao segar), P2 (limbah pulp kakao yang didiamkan selama 3 hari), dan P3 (didiamkan selama 5 hari).

Masing-masing limbah kakao yang telah diberikan perlakuan dicampurkan dengan 4 L air kemudian disaring untuk memisahkan serat kasar. Hasil saringan pulp kakao dipanaskan hingga mendidih selama  $\pm$  30 menit bersama 25 g ZA dan

500 g gula pasir. Setelah mendidih, asam cuka ditambahkan sedikit demi sedikit sehingga mencapai pH 4. Medium yang telah dingin dituang ke nampan plastik steril masing-masing sebanyak 500 mL dan ditambahkan 90 mL starter. Nampan ditutup dengan menggunakan kertas koran steril dan diinkubasi secara statis pada suhu ruang selama 14 hari.

Lembaran bioselulosa yang mengapung pada permukaan media dipanen setelah 14 hari, kemudian dicuci dengan air bersih. Masing-masing lembaran bioselulosa diukur ketebalan dan beratnya. Lembaran bioselulosa dikeringkan dengan menggunakan oven selama 24 jam hingga mencapai berat konstan. Pengukuran rendemen selulosa dilakukan menurut Ratnawati [11]. Data yang diperoleh dianalisis oleh *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji Beda Nyata Terkecil dengan  $\alpha = 0,05$  dengan bantuan program SPSS v.20,0. Pengamatan menggunakan SEM-EDS menggunakan sampel bioselulosa kering dilakukan di Laboratorium Fisika FMIPA Universitas Negeri Makassar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengolahan limbah pulp kakao menjadi bioselulosa (*nata de cacao*) pada dasarnya sama dengan pembuatan *nata de coco*. Limbah pulp kakao berfungsi sebagai tambahan senyawa gula dan nutrisi dalam media pertumbuhan *Acetobacter xylinum*. Limbah pulp kakao yang digunakan merupakan limbah pulp kakao yang masih segar dan sudah disimpan selama 3 dan 5 hari, untuk mengetahui pengaruh penyimpanan pulp kakao terhadap pembentukan bioselulosa. Hal ini dilakukan karena limbah pulp kakao tidak bisa tersedia setiap saat, tergantung masa panen di perkebunan. Dari hasil penelitian, pada semua perlakuan terbentuk lapisan selulosa ekstraseluler berwarna kuning keruh (Gambar 1).



**Gambar 1.** Lembaran bioselulosa yang diolah dari limbah pulp kakao

Ketebalan bioselulosa yang terbentuk bervariasi, meskipun secara statistik tidak berbeda nyata antar perlakuan (Tabel 1). Bioselulosa yang paling tebal dijumpai pada perlakuan limbah pulp yang disimpan selama 3 hari, yaitu 1,11 cm. ketebalan ini berkorelasi dengan berat basah bioselulosa, dimana bioselulosa dengan berat tertinggi juga pada perlakuan limbah pulp kakao yang disimpan selama 3 hari, sebesar 446,33 g (Tabel 1).

**Tabel 1.** Kadar asam urat darah mencit jantan pada kondisi normal (H-0), kondisi hiperurisemia (H-7), dan setelah perlakuan (H-14)

Perlakuan	Tebal (cm)	Berat Basah (g)	Rendemen Selulosa (%)
P1	0,76	226,66 <sup>a</sup>	31,87 <sup>c</sup>
P2	1,11	446,33 <sup>b</sup>	23,74 <sup>b</sup>
P3	0,93	253,66 <sup>a</sup>	22,48 <sup>a</sup>

Ket: Angka yang diikuti dengan huruf yang berbeda menunjukkan beda nyata menurut uji BNT pada taraf kepercayaan 95%

Peningkatan berat dan ketebalan bioselulosa yang terbentuk menunjukkan aktivitas *Acetobacter xylinum* dalam menghasilkan selulosa ekstraseluler. Penyimpanan selama 3 hari membuat kondisi limbah pulp semakin asam karena terjadi fermentasi oleh bakteri *indigenus*. *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri yang dapat bertahan hidup dalam kondisi asam. Untuk itu perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui apakah terdapat bakteri dari Genus *Acetobacter* *indigenus* pada limbah pulp kakao.

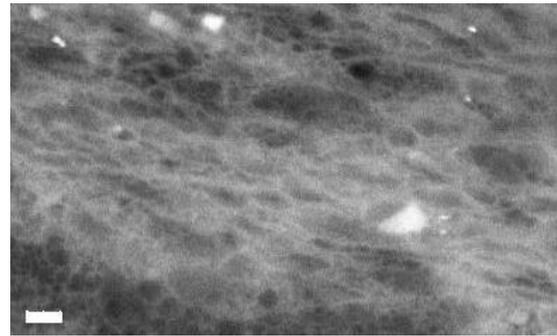
Monomer-monomer selulosa hasil sekresi *Acetobacter xylinum* saling berikatan satu dengan yang lainnya membentuk lapisan yang terus menebal seiring dengan proses metabolisme dari *Acetobacter xylinum*. Bioselulosa tersebut bertujuan sebagai penopang sel-sel bakteri untuk memperoleh suplai oksigen dari udara, melindungi dari radiasi sinar ultraviolet, melindungi dari kekeringan, dan melindungi bakteri dari pesaingnya [17], [18].

Peningkatan berat bioselulosa dari limbah pulp kakao ini berhubungan dengan kadar air yang terkandung di dalam nata. Nata mengandung sekitar 98% air [19] yang terperangkap dalam serat nata. Faktor lain yang mempengaruhi ketebalan nata adalah kekompakan ikatan antar serat selulosa [12], [20].

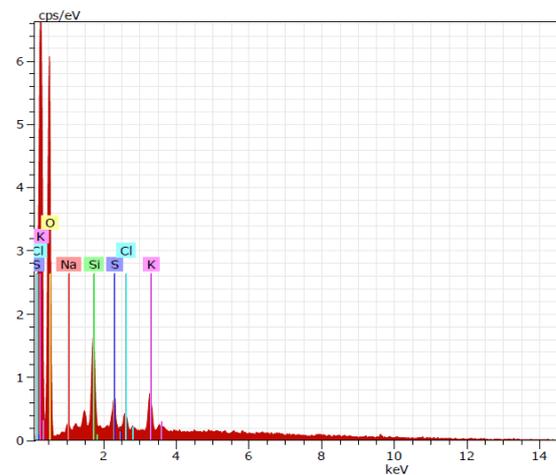
Rendemen selulosa pada setiap sampel dihitung dengan mengonversi berat basah dan berat kering selulosa yang terbentuk. Rendemen selulosa tertinggi yang disajikan pada Tabel 1 diperoleh pada limbah pulp segar (31,87 %) diikuti dengan rendemen selulosa pada limbah pulp yang disimpan selama 3 hari (23,74 %), dan limbah pulp yang disimpan selama 5 hari (22,48 %). Hal ini menunjukkan bahwa pada bioselulosa yang terbentuk dari limbah pulp yang telah disimpan, baik selama 3 atau 5 hari, memiliki kandungan yang tinggi. Sedangkan bioselulosa yang berasal dari limbah pulp segar memiliki kandungan selulosa lebih banyak.

Penelitian ini dilanjutkan dengan menganalisa tekstur dan bentuk bioselulosa dari limbah pulp kakao yang sudah dikeringkan. Hasil SEM menunjukkan fibril bioselulosa yang berpori (Gambar 2). Fibril bioselulosa berikatan satu sama lain membentuk lapisan yang menebal. Adanya pori-pori pada lapisan bioselulosa memungkinkan bioselulosa dari limbah pulp kakao ini

dapat diaplikasikan sebagai membran penutup luka [21].



**Gambar 2.** Hasil SEM bioselulosa dari limbah pulp kakao (skala 2 µm)



**Gambar 3.** Hasil EDS bioselulosa dari limbah pulp kakao

**Tabel 2.** Hasil pengamatan spectrum elemen pada bioselulosa limbah pulp kakao secara kualitatif

Elemen	Persentase Atom (%)	Senyawa
Silikon	18,62	SiO <sub>2</sub>
Sulfur	4,92	SO <sub>3</sub>
Klorin	1,63	
Kalium	10,13	K <sub>2</sub> O
Oksigen	59,60	
Natrium	5,11	Na <sub>2</sub> O

Untuk mengetahui kandungan unsur yang terdapat di dalam bioselulosa dari limbah pulp kakao dilakukan pengamatan menggunakan EDS. Hasil menunjukkan bahwa pada bioselulosa tersebut

mengandung senyawa  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ , dan  $\text{Na}_2\text{O}$  (Gambar 3 dan Tabel 2). Kandungan silicon yang cukup tinggi pada bioselulosa dari limbah pulp kakao memungkinkan aplikasi bioselulosa ini sebagai absorben. Hal ini juga ditunjukkan oleh kondisi bioselulosa yang dapat menyerap uap air dari udara sekitarnya, yang mengakibatkan lembaran bioselulosa yang sudah dikeringkan terasa lembab dan kenyal setelah disimpan pada suhu kamar. Namun dapat kering kembali jika dijemur atau dipanaskan dalam oven.

Pemanfaatan bioselulosa sebagai bahan baku pembuatan bioselulosa juga merupakan salah satu bentuk bioremediasi (teknologi pengolahan limbah dengan menggunakan bakteri). Hal ini menjadi salah satu solusi pengolahan limbah yang ramah lingkungan dan lebih murah dibandingkan dengan aplikasi kimia dan fisik. Penelitian lanjutan mengenai optimasi produksi bioselulosa ini masih perlu dilakukan. Selain sebagai biomembran, bioselulosa dari limbah pulp kakao juga dapat dimanfaatkan untuk pembuatan bioplastik, biofilter, dan bioabsorben.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan bahwa produksi bioselulosa dari limbah pulp kakao dapat dilakukan. Bioselulosa yang paling tebal dan berat basah tertinggi dijumpai pada perlakuan limbah pulp yang disimpan selama 3 hari (1,11 cm dan 446,33 g). Namun rendemen selulosa tertinggi (31,87 %) diperoleh pada bioselulosa yang terbentuk dari limbah pulp kakao. Di dalam bioselulosa dari limbah pulp kakao terdapat senyawa  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{SO}_3$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ , dan  $\text{Na}_2\text{O}$ .

## DAFTAR REFERENSI

[1] W. W. Y. Voon, Y. Rukayadi, and A. S. M. Hussin, "Isolation and identification of biocellulose-producing bacterial strains from Malaysian acidic fruits,"

*Letters in Applied Microbiology*, 62, pp. 428-433, 2016.

- [2] R. Melliawati, "Bahan baku alternatif pembuatan bioselulosa," *BioTrends*, vol. 6, no. 2, pp. 1-3, 2015.
- [3] E. Tsouko, C. Kourmentza, D. Ladakis, N. Kopsahelis, I. Mandala, S. Papanikolau, F. Paloukis, V. Alves, and A. Koutinas, "Bacterial cellulose production from industrial waste and by-product streams," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 16, pp. 14832-14849, 2015.
- [4] S. Masaoka, T. Ohe, and N. Sakota, "Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*," *Journal of Fermentation and Bioengineering*, vol. 75, pp. 18-22, 1993.
- [5] T. Oikawa, T. Morino, and M. Ameyama, "Production of cellulose from D-arabitol by *Acetobacter xylinum* KU-1," *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, vol. 59, pp. 1564-1565, 1995.
- [6] T. Oikawa, T. Ohtori, and M. Ameyama, "Production of cellulose from D-mannitol by *Acetobacter xylinum* KU-1," *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, vol. 59, pp. 331-332, 1995.
- [7] P. Ross, R. Mayer, and M. Benzmann, "Cellulose biosynthesis and functions in bacteria," *Microbiological Reviews*, vol. 55, pp. 35-58, 1991.
- [8] R. Barlina, "Bioselulosa dari *nata de coco* sebagai bahan baku edible film," *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri*, vol. 20, No. 1, pp. 1-4, 2014.
- [9] S. S. Afreen and B. Lokeshappa, "Production of bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* using fruits wastes as substrate" *The International Journal of Science and Technology*, vol. 2, no. 8, pp. 57-64, 2016.
- [10] N. Herawaty and M. A. Moulina, "Kajian variasi konsentrasi sukrosa terhadap karakteristik nata timun suri (*Cucumis sativus* L.)," *Agritepa*, vol. 2, no. 1, pp. 89-104, 2015.

- [11] D. Ratnawati, "Kajian variasi kadar glukosa dan derajat keasaman (pH) pada pembuatan nata de citrus dari jeruk asam (*Citrus lemon* L.)," *Jurnal Gradien*, vol. 3, no. 2, pp. 257-261, 2007.
- [12] N. Setyaningtyas, A. Kusrijadi, and A. Suryatna, "Pembuatan nata de cassava dari kulit singkong menggunakan sumber nitrogen ekstrak tauge dan kacang hijau," *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, vol. 5, no. 2, pp. 124-131, 2014.
- [13] N. Arifiani, T. A. Sani, and A. S. Utami, "Peningkatan kualitas nata de cane dari limbah nira tebu metode budchips dengan penambahan ekstrak tauge sebagai sumber nitrogen," *Bioteknologi*, vol. 12, no. 2, pp. 29-33, 2015.
- [14] A. Sutanto, "Pineapple liquid waste as nata de pina raw material," *Makara Teknologi*, vol. 16, no. 1, pp. 63-67, 2012.
- [15] S. Sutiyani, Wignyanto, and Sukardi, "Pemanfaatan limbah cair (whey) industri tahu menjadi nata de soya dan kecap berdasarkan perbandingan nilai ekonomi produksi," *Jurnal Teknologi Pertanian*, vol. 4, no. 1, pp. 70-83, 2003.
- [16] D. A. A. Elisabeth, "Nata de kakao: memanfaatkan limbah menyelamatkan lingkungan," *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, vol. 28, no. 4, pp. 6-7, 2006.
- [17] Suharjono, T. Ardyati, E. Zubaidah, Munawaroh, and C. Pradani, "Produksi selulosa bakterial dari air buah kelapa dalam berbagai konsentrasi sukrosa dan urea," *Prosiding Seminar Nasional VIII Pendidikan Biologi*, pp.124-128, 2011.
- [18] M. Florea, B. Reeve, J. Abbott, P. S. Freemont, and T. Ellis, "Genome sequence and plasmid transformation of the model high-yield bacterial cellulose producer *Gluconacetobacter hansenii* ATCC 53582," *Scientific Reports*, vol. 6, no. 23635, pp.1-9, 2016.
- [19] Misgiyarta, "Teknologi pembuatan nata de coco," Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca Panen Pertanian Bogor, 2007.
- [20] B. Hastuti and S. Hadi, "Pengaruh penambahan konsentrasi gula terhadap kualitas nata de soya dari limbah cair tahu," *Makalah Seminar Nasional Kimia Jurusan Pendidikan FMIPA UNY*, pp. 1-8, 2009.
- [21] P. R. Chawla, I. B. Bajaj, S. A. Survase, and R. S. Singhal, "Microbial cellulose: fermentative production and applications," *Food Technology and Biotechnology*, vol. 47, no. 2, pp. 107-124, 2009.