

Potensi Membran Nata De Coco Sebagai Material Biosensor (The Use of Nata de Coco Membrane as Biosensor Material)

Tri Mulyono¹⁾, Asnawati¹⁾, Indra Noviandri²⁾ dan Buchari²⁾

¹⁾ Staf Pengajar FMIPA Universitas Jember

²⁾ Jurusan Kimia FMIPA ITB Bandung

ABSTRACT

Nata de coco has been characterized as filter toward glucose solutions. Standard nata de coco membrane can not be used as membrane because of variations of thickness. It has unequal weight if it was made thinner. Based on its character, nata de coco had been made in various incubation times. Three days incubation time membrane have passed up 76.84 % glucose, 61.15 Lm² hr⁻¹ flux/permeability. In Low concentration, it's produced permeate 87% and decrease in increasing concentration. Structures of membrane morphology showed that existence of bovine serum albumin (BSA) in glucose solution possibility didn't influence determination of glucose in blood.

Keywords : Nata de Coco, Membrane, Glucose

PENDAHULUAN

Nata de coco adalah hasil proses fermentasi air kelapa menggunakan *acetobacter xylinum*. Kandungan utama nata de coco adalah selulosa, sehingga nata de coco merupakan jenis selulosa bakterial. Menurut Krystinowicz dan Bielecki (2001), selulosa bakterial mempunyai beberapa keunggulan antara lain kemurnian tinggi, derajat kristalinitas tinggi, mempunyai kerapatan antara 300 dan 900 kg m⁻³, kekuatan tarik tinggi, elastis dan terbiodegradasi.

Publikasi-publikasi yang mengarah pada pengembangan selulosa bakterial sebagai material yang bernilai tambah sudah banyak dilakukan. Beberapa diantaranya adalah sebagai membran dialisis (Shibazaki, 1993), sebagai elemen pendukung untuk sensor amperometri glukosa (1995), eksplorasi sifat listrik (Yoshino 1991), dan magnetnya (Sourty, 1998) dan penggunaan selulosa bakterial sebagai bahan diafragma transduser, bahan pencampur dalam industri kertas (Iguchi, 2000).

Sebagai sensor glukosa, penggunaan selulosa bakterial (nata de coco) belum banyak ditemui. Salah satu diantaranya adalah publikasi dari Ammon dan kawan-kawan (1995) yang menggunakan selulosa bakterial sebagai elemen pendukung sensor amperometri untuk glukosa. Membran ini diintegrasikan bersama enzim glukosa oksidase (GOD) yang diimmobilisasikan ke dalam poliuretan menjadi suatu sensor amperometri. Dengan disain ini kestabilan waktu pengukuran (*longterm stability*) menjadi lebih tinggi sekitar 6 – 7 kali dibanding metode pengukuran sensor amperometri konvensional. Namun, disain ini

mempunyai kelemahan utama ketergantungan pada konsentrasi oksigen terlarut dalam larutan atau sampel. Tingkat konsentrasi oksigen yang tidak menentu dalam sampel atau larutan mengakibatkan deteksi glukosa menjadi tidak akurat.

METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Nata de coco standar dan bakteri *acetobacter xylinum* diperoleh dari SMK Pertanian, air kelapa, gula, (NH₄)₂SO₄, NaOH, Asam asetat glacial, Na₂HPO₄, H₃PO₄, Na₃PO₄, glukosa, BSA, reagen/Nelson dan Aquades. Sedangkan peralatan yang digunakan adalah seperangkat peralatan pembuatan membran, alat permeabilitas/sel filtrasi, peralatan gelas, peralatan pembuatan nata, neraca analitik, spektrofotometer Genesys.

Prosedur

Pembuatan Nata de coco

Nata de coco dibuat dari 1 L air kelapa, dididihkan, lalu ditambah 6,7 gram gula pasir dan 5 gram (NH₄)₂SO₄. Setelah dingin pH media diatur sehingga mencapai 4 dengan menambahkan asam asetat glacial, kemudian diinokulasi dengan starter dan diinkubasi pada suhu 30-32°C.

Pemurnian Nata de coco

Nata de coco standar dan nata de coco hasil fermentasi dicuci dengan air mengalir selama 24 jam. Selanjutnya dicuci dengan NaOH 2% selama 1 jam pada suhu 80-90°C. Terakhir dicuci kembali dengan air sampai pH netral.

Pembuatan Membran Selulosa nata de coco

Nata de coco yang standar dan nata de coco hasil fermentasi yang telah netral kemudian ditekan dengan alat pembuat membran dan dibiarkan semalam pada suhu kamar. Selanjutnya film ini dikarakterisasi untuk larutan glukosa.

Karakterisasi Kinerja Membran Uji Permeabilitas Membran

Pengujian ini berguna untuk mengetahui laju difusi glukosa melalui membran. Permeabilitas akan menentukan harga fluks yang merupakan volume permeat yang melewati tiap satuan luas permukaan membran per satuan waktu. Fluks volume dinyatakan sebagai berikut:

dimana :

$$J_v = \text{fluks volume (L/m}^2\text{jam)} \quad J_v = \frac{V}{A.t}$$

A= luas permukaan (m²)
t = waktu (jam)

Kadar glukosa diukur dengan metode spektrofotometri. Larutan glukosa direaksikan dengan reagen Nelson, menghasilkan warna biru dan dideteksi dengan spektrofotometer Genesys pada λ 749 nm.

Analisis Morfologi

Struktur permukaan membran dipelajari dengan menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM). Karakterisasi yang dilakukan adalah : (1) membran selulosa nata de coco murni (2) membran nata de coco yang telah diperlakukan dengan larutan glukosa, (3). membran nata de coco yang telah diperlakukan

dengan albumin serum bovine 7% dan membran nata de coco yang telah diperlakukan dengan glukosa bersama albumin serum bovine 7%. Ini berguna untuk mengetahui adanya adsorpsi protein pada permukaan membran selulosa nata de coco.

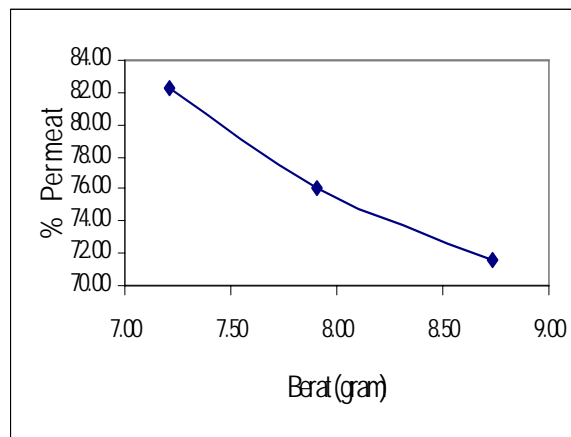
HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Kinerja Membran dengan uji permeabilitas terhadap Glukosa

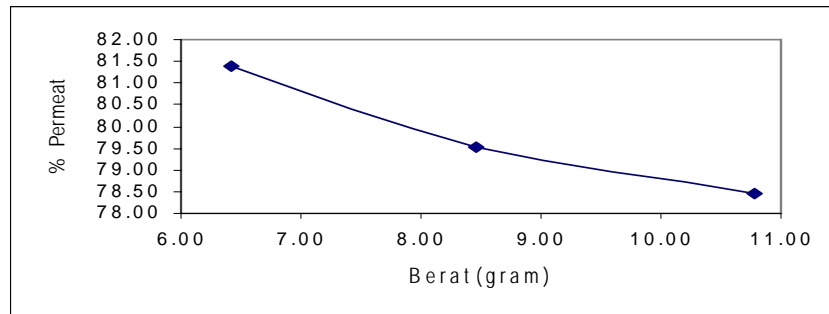
Membran pada penelitian ini dimulai dari sellulosa bakterial (nata de coco) standar yang dibeli dengan waktu inkubasi 12 hari/lebih diuji nilai permeabilitasnya dengan larutan glukosa. Larutan glukosa yang diujikan dengan konsentrasi 100 ppm yang dilewatkan melalui membran dengan berat berbeda, permeat yang dihasilkan dianalisa secara spektrofotometri. Hasil pengukuran konsentrasi permeat dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.

Gambar 2 dan Gambar 3 memperlihatkan bahwa pengaruh berat membran terhadap konsentrasi permeat yang dihasilkan dimana semakin ringan membran semakin banyak glukosa yang dapat melewati membran. Kedua macam membran ini dapat melewatkan glukosa lebih dari 70%. Namun cara ini tidak dapat menghasilkan membran yang berat persis sama. Solusinya adalah membran dibuat sendiri dengan variasi hari untuk menghasilkan ketebalan yang berbeda.

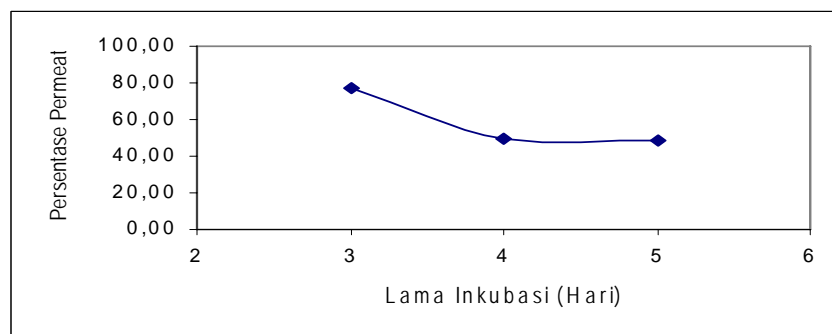
Dalam penelitian ini dilakukan variasi hari inkubasi 3, 4 dan 5 hari. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 1. Pengaruh berat (berat basah) membran (bagian muka nata) terhadap permeat



Gambar 2. Pengaruh berat (berat basah) membran bagian tengah nata terhadap permeat .



Gambar 3. Pengaruh lama inkubasi terhadap permeat

Gambar 3 memperlihatkan bahwa membran dengan lama inkubasi 3 hari menghasilkan persentase permeat paling besar yaitu 76,84 %. Variasi lama inkubasi akan menentukan tebal tipisnya membran. Membran dengan lama inkubasi 3 hari lebih tipis dibanding 4 dan 5 hari. Grafik menunjukkan semakin tipis membran menghasilkan permeat dengan persentase lebih tinggi. Membran tipis yang dihasilkan dalam waktu yang lebih cepat berkaitan dengan semakin sedikit serat selulosa dan kurang kompak struktur matriks selulosa. Sehingga tercipta membran dengan pori lebih banyak. Hal ini mengakibatkan kinerja membran yang dihasilkan semakin baik. Di sisi lain membran yang demikian akan memiliki sifat mekanik yang kurang menguntungkan. Dengan demikian membran dengan lama inkubasi 3 hari dipilih untuk penelitian selanjutnya.

Faktor lain yang mempengaruhi kinerja membran adalah permeabilitas membran terhadap analit. Permeabilitas didefinisikan sebagai volume permeat yang melewati setiap satuan luas permukaan membran persatuan waktu. Permeabilitas ditentukan oleh fluks. Gambar 4 menunjukkan pengaruh waktu pengambilan permeat terhadap fluks.

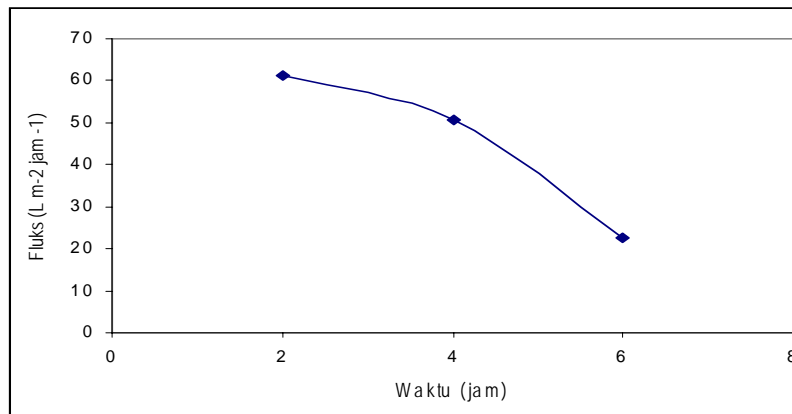
Hasilnya menunjukkan pada 2 jam pertama harga fluks sebesar $61,15 \text{ Lm}^{-2}\text{jam}^{-1}$, untuk 2 jam kedua dan 2 jam ketiga menurun $50,62$ dan $22,65 \text{ Lm}^{-2}\text{jam}^{-1}$. Besarnya nilai fluks ditunjukkan oleh banyak pori dan ukuran pori. Semakin lama nilai fluks semakin kecil karena pori-pori membran semakin banyak ditutupi oleh molekul yang tertahan di dalam. persentase permeat (glukosa) yang melewati membran setiap 2 jam, dapat dilihat pada Gambar 5. Di samping itu karena membran nata de coco yang komponen utamanya berupa selulosa dengan gugus utama hidroksil yang bersifat penarik air mengakibatkan membran memiliki nilai penggelembungan yang cukup besar. Sehingga fenomena penggelembungan membran mempengaruhi keadaan dan bentuk pori yang konsekuensinya mempunyai pengaruh yang cukup besar pada kinerja membran.

Gambar 5 menunjukkan bahwa waktu pengambilan pertama (2 jam pertama) ditemukan 75,64% glukosa dapat melewati membran. Untuk 2 jam kedua dan ketiga menurun sedikit menjadi 73,72% dan 71,80%. Hal ini menunjukkan bahwa membran selulosa bacterial dapat digunakan berulang-ulang

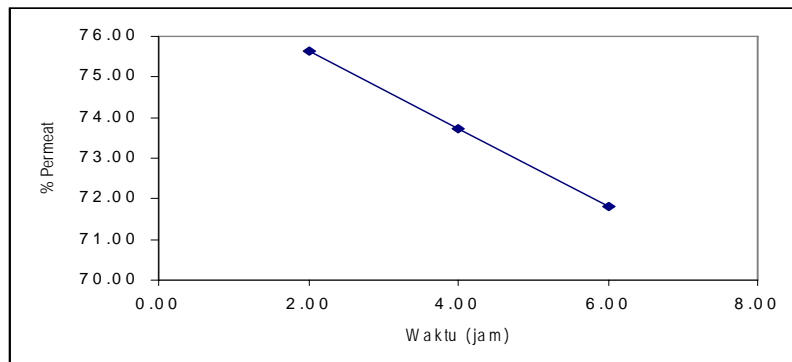
sehingga baik digunakan sebagai membran glukosa.

Uji kinerja membran terhadap variasi konsentrasi glukosa dapat dilihat pada Gambar 6. Dari Gambar 6 terlihat untuk konsentrasi glukosa awal rendah, permeat yang dihasilkan

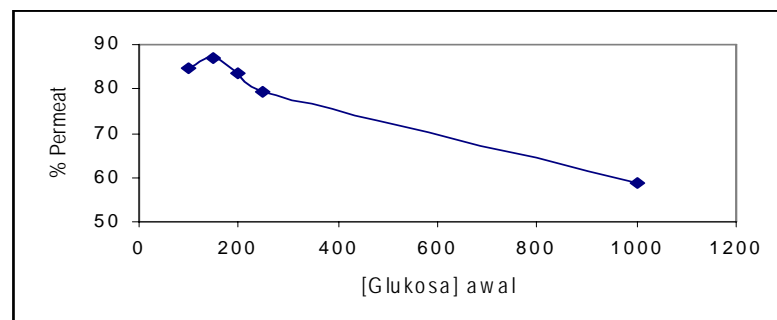
mencapai 87%. Seiring dengan kenaikan konsentrasi glukosa awal, persentase permeat yang dihasilkan berkurang. Pada konsentrasi 1000 ppm dihasilkan permeat 59%. Dengan demikian, membran ini lebih baik digunakan pada konsentrasi rendah.



Gambar 4. Pengaruh waktu pengambilan permeat terhadap fluks glukosa



Gambar 5. Pengaruh waktu pengambilan permeat terhadap persentase permeat.



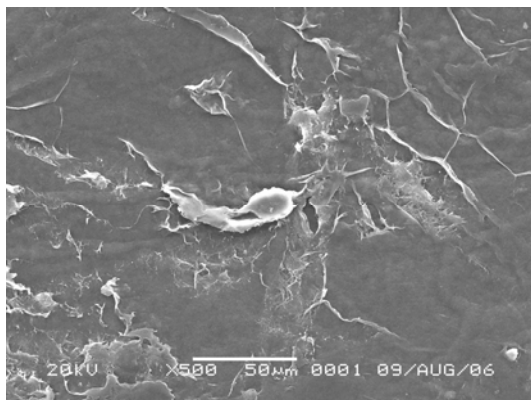
Gambar 6. Pengaruh variasi konsentrasi terhadap persentase permeat

Analisis Morfologi

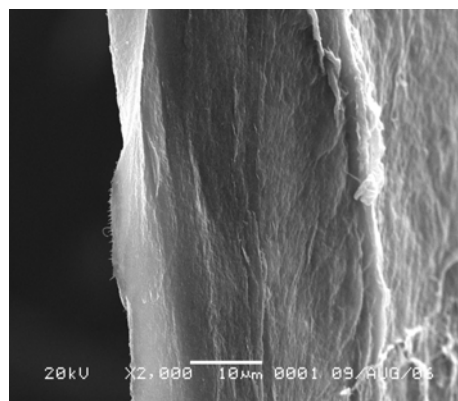
Struktur permukaan membran dipelajari dengan menggunakan Scanning Electron Microscopy (SEM). Karakterisasi yang dilakukan adalah : (1) membran selulosa nata de coco murni (2) membran nata de coco yang telah diperlakukan dengan larutan glukosa, (3). membran nata de coco yang telah diperlakukan dengan albumin serum bovine 7% dan membran nata de coco yang telah diperlakukan dengan glukosa bersama albumin serum bovine 7%. Ini berguna untuk mengetahui adanya adsorpsi protein pada permukaan membran selulosa nata de coco. Hasilnya dapat dilihat pada Gambar 7-14.

Dari struktur permukaan tidak terlihat adanya perbedaan yang berarti antara membran

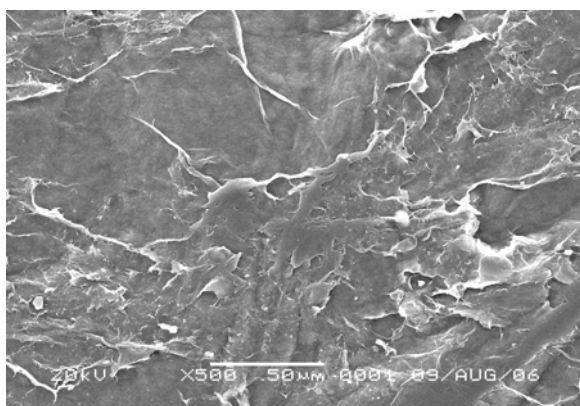
murni, dan membran yang diperlakukan dengan bovin serum albumin. Perlakuan dengan glukosa saja dan glukosa-bovin serum albumin memperlihatkan pori-pori permukaan yang lebih kasar. Struktur penampang memberikan gambaran bahwa serat membran nata murni halus dan lurus, membran yang diperlakukan dengan bovin serum albumin tidak jauh berbeda dengan membran nata murni. Membran yang diperlakukan dengan glukosa saja dan glukosa-bovin memberikan penampang lintang yang besar-besar dan tidak teratur. Struktur tersebut menunjukkan bahwa bovin serum albumin yang ada dalam darah, kemungkinan tidak akan mengganggu dalam penentuan glukosa dalam darah.



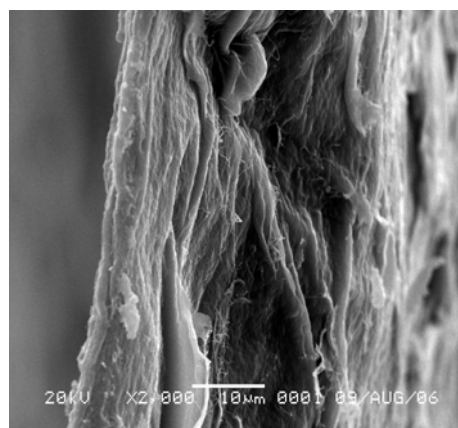
Gambar 7. Hasil SEM Membran Nata de Coco (permukaan)



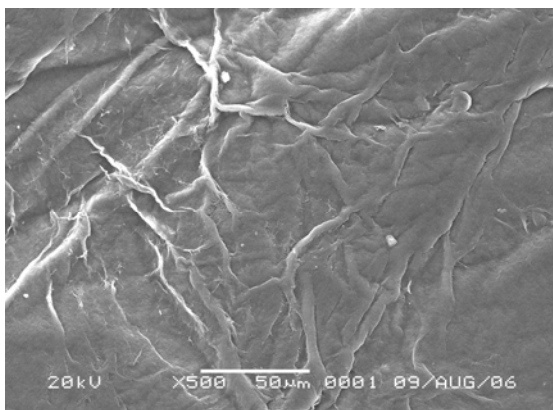
Gambar 8. Hasil SEM Membran (Nata de Coco) (penampang)



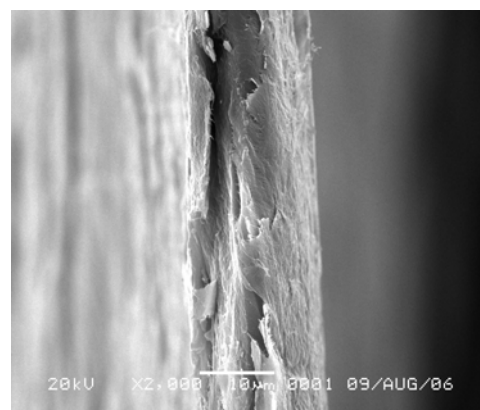
Gambar 9. Hasil SEM membran yang diinkubasi dengan glukosa selama 2 jam (muka)



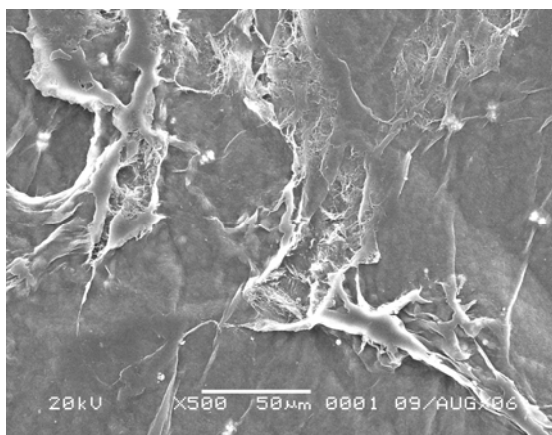
Gambar 10. Hasil SEM membran yang diinkubasi dengan glukosa selama 2 jam (penampang)



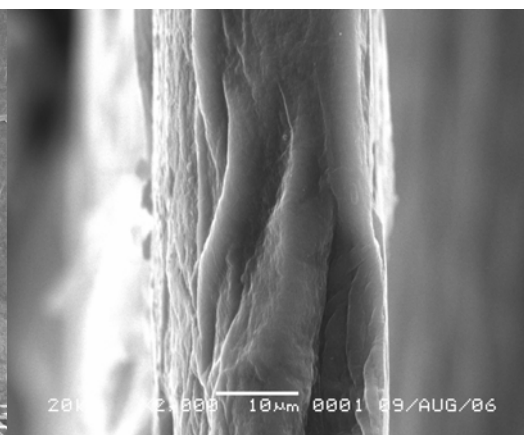
Gambar 11. Hasil SEM membran yang diinkubasi dalam bovin 7% selama 2 jam (muka)



Gambar 12. Hasil SEM membran yang diinkubasi dalam bovin 7% selama 2 jam (penampang)



Gambar 13. Hasil SEM membran yang diinkubasi dalam glukosa dan bovin selama 2 jam (muka)



Gambar 14. Hasil SEM membran yang diinkubasi dalam glukosa dan bovin selama 2 jam (penampang)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Membran nata de coco standar tidak dapat digunakan sebagai membran karena terlalu tebal, jika ditipiskan tidak bisa menghasilkan berat yang persis sama. Oleh karena itu nata de coco dibuat sendiri dengan lama inkubasi yang bervariasi.
2. Membran dengan lama inkubasi 3 hari dapat melewati glukosa sebesar 76,84 %, harga fluks/permeabilitas sebesar $61,15 \text{ Lm}^{-2}\text{jam}^{-1}$.
3. Untuk konsentrasi rendah permeat yang dihasilkan mencapai 87% dan berkurang dengan bertambahnya konsentrasi.
4. Struktur morfologi membran menunjukkan adanya bovin serum albumin dalam larutan

glukosa kemungkinan tidak mempengaruhi penentuan glukosa dalam darah.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan banyak terimakasih atas dukungan dana dari DP2M Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional sehingga Penelitian Hibah Pekerti Tahap I bisa dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Ammon. HP, Ege W. Oppermann M., Gopel W., and Eisele S., 1995. *Improvement In The Long Term Stability Of An Amperometric Glucose Sensor System By Introducing A Cellulose Membrane Of Bacterial Origin*, J. Analytical Chemistry, **67** (2) : 466-71.

- Alder JF, 1987. *Lecturer Notes*, UMIST, pp L4-23
- Cokro Prawiro, 1988. *Diabetes Mellitus dan macam-macam Diet diabetes B, B1, B & B1, puasa, B2, B3 dan Be*, Edisi XI, Universitas Airlangga press, Surabaya
- Hans Diehl, 1995. *Waspada! Diabetes Mellitus, Kolesterol, Hipertensi, Indasia Publishing House*, Bandung.
- Iguchi M., 2000. Review Bacterial Cellulose-A Masterpiece of Nature's Arts, , *J. Material Science*, **35**.Vol.55B : 1-10.
- Krystynowicz, 2001. *Biosynthesis of Bacterial Cellulose and its Potential Application in The Different Industries*, <http://www.biotecnology.pl.com/scienc e/krystynomcz.htm>.
- Kristinowicz, 2005. Molecular Basis of Cellose Biosynthesis Dissapearance in Submerged Culture of Acetobacter Xylinium. *Jurnal Acta Biochimica Polonica*. **52** (3) : 691 -698.
- Pringgodigdo AG, 197. *Ensklipodia umum*, Penerbit Yayasan Kanisius
- Siddiqi I.W., 1982. *Clin.Chem*, 28 : 1962-1967.
- Shibazaki H. Kuga, S. Fumihiko, O. and Usuda, M., 1993. Bacterial cellulose as Separation Medium. *Journal of Applied Polymer Science*, **50** : 965-969.
- Sourty E., Ryan, D. H., And Marchessault, R. H., 1998. Characterization of magnetic membranes based on bacterial and man-made cellulose, *Journal of Cellulose*, **5** (1) : 5 – 17.
- Yoshino K.,Take H., Nishiki, N., and Yoshimura, S., 1991. Electrical Property of Pyrolized Bacterial Cellulose and Its Intercalation Effect, synthetic metals, *Japanese Journal of Applied Physics*, **43** (3) : 1118-1121.