

## Ketahanan Hidup Sel *Acetobacter xylinum* pada Pengawetan secara Kering-Beku Menggunakan Medium Pembawa

(Viability of *A. xylinum* Subjected to Freeze Drying Using Carrier Media)

PRAMESTI DEWI

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Semarang  
Gedung D6 Lt 1 Jl. Raya Sekaran Gunungpati Semarang 50229 Telp. (024) 8508033  
email: iwed\_pramesti @ yahoo.co.id

### ABSTRACT

A research on the use of sucrose and lactose as carrier media to protect *Acetobacter xylinum* cell subjected to freeze drying has been done. The aim of the research was to know the number of the viable cells from dried culture and to know the concentration of the carrier medium that would give best result. The best result is sucrose at the concentration of 15% that produced  $28.2 \times 10^6$  viable cells/ ml of rehydrated culture. The rehydrated culture used in the research was Schramm & Herstin medium.

Key words : *Acetobacter xylinum*, freeze drying, carrier media

### PENDAHULUAN

Kultur *Acetobacter xylinum* merupakan kultur bakteri yang digunakan sebagai starter pada pembuatan nata. Bakteri *A. xylinum* membutuhkan syarat nutrisi untuk pertumbuhannya, yaitu air 90 %, protein 0,29 %, lemak 0,15 %, karbohidrat 7,27 % serta abu 1,06 % yang tersedia pada air kelapa. Selain itu dibutuhkan nutrien dari kelompok vitamin B kompleks.

Starter siap pakai dapat diturunkan dari biakan murni *A. xylinum* yang telah dikultur-cairkan, atau dapat dibuat melalui pembuatan kultur murni secara liar dengan media campuran antara ampas nanas, air dan gula dengan perbandingan 6 : 3 : 1. Setelah inkubasi selama 2-3 minggu diperoleh pelikel di permukaan media yang selanjutnya dapat dipakai sebagai inokulum pada pembuatan nata (Palungkun 1992).

*A. xylinum* adalah bakteri gram negatif dan sangat unik dalam hal kecepatannya memproduksi selulosa. Barisan pori pada bakteri secara khusus mensekresikan kristal mini dari rantai glukuan yang selanjutnya bergabung menjadi mikrofibril. Gabungan mikrofibril menghasilkan struktur berupa pita. Pita yang terbentuk pada pengamatan menggunakan mikroskop cahaya menunjukkan suatu selulosa. *A. xylinum* adalah model yang digunakan untuk mempelajari enzim dan gen yang terlibat dalam biosintesa selulosa. Organisme ini juga menjanjikan sebagai sumber selulosa masa

depan untuk industri tekstil, kertas dan kayu bila proses fermentasi dapat digandakan skalanya secara efektif.

Bakteri *A. xylinum* dapat menggunakan glukosa, gula, gliserol, atau substrat organik lainnya kemudian mengubahnya menjadi selulosa murni (Brown 2004). Satu sel dapat mempolimerisasi lebih dari 200.000 residu glukosa per detik ke dalam rantai  $\beta$ -1,4 glukuan. Enzim selulosa sintase pada *A. xylinum* berada pada membran sitoplasma dan produk selulosa diperoleh ekstraselular (Saxena *et al.* 2004).

Starter yang tersedia selama ini adalah dalam bentuk cair dalam kemasan botol gelas dan penutup berupa sumbat kapas. Kultur dalam keadaan cair mudah mengalami kontaminasi, mudah turun potensinya pada penyimpanan, dan sulit dalam pengelolaannya.

Dalam menjaga keberlanjutan proses produksi produk fermentasi dibutuhkan starter kultur mikrobial yang tersedia secara terus menerus dalam keadaan siap pakai, dengan potensi yang maksimal, mudah dikelola dan dapat disimpan lama dengan aktivitas produksi yang tetap tinggi. Kultur yang disimpan diharapkan dalam keadaan stabil dalam arti tidak mengalami mutasi genetik (Isaac & Jennings 1995) sehingga kualitas produk terjaga baik. Cara penyimpanan dan pengawetan kultur yang dapat memenuhi syarat tersebut adalah cara *freeze-drying* (pengeringan beku).

Telah dilakukan upaya untuk membuat starter nata dalam bentuk kering beku dengan pengawetan secara *freeze drying*. Teknologi *freeze drying* merupakan teknologi yang layak diterapkan pada kultur bakteri karena memberikan banyak keuntungan.

*Freeze-drying* adalah proses pengeringan bahan dengan menggunakan kombinasi perlakuan pembekuan dan dehidrasi. Bahan yang akan *freeze-drying* dibekukan dan diletakkan dalam bejana tertutup rapat dengan tekanan *vaccum* dan didehidrasi dalam keadaan *vaccum* menggunakan panas yang terjaga. Dalam proses *freeze-drying* air dalam bahan dibekukan dengan cepat dan langsung diubah menjadi uap tanpa melalui fase cair. Bahan hasil *freeze-drying* menjadi kering, ringan dan membutuhkan ruang lebih ringkas untuk penyimpanan dan pengangkutan. Penyimpanan dalam refrigerator tidak dibutuhkan tetapi perlu dilakukan rekonstitusi dengan penambahan air sebelum digunakan.

Pada penelitian sebelumnya telah digunakan sukrosa pada medium *nata de radia* yang dapat terhidrolisa menjadi glukosa dan fruktosa pada keadaan asam dan tersedia air, tetapi nampaknya jumlah glukosa yang dihasilkan kurang memenuhi sebagai medium pembawa. Berdasarkan hal ini maka dibutuhkan suatu penelitian untuk mencari dosis medium pembawa yang sesuai sehingga sel *A. xylinum* yang ada dalam kultur cair yang dikeringbekukan dapat dipertahankan viabilitasnya. Dari penelitian ini diharapkan dapat dihasilkan starter nata kering yang tinggi viabilitasnya sehingga tetap terjaga potensinya sebagai starter nata pada pembuatan nata.

*Freeze-drying* adalah cara yang sangat berhasil diterapkan pada kultur mikrobial karena kultur tidak menjadi rusak seperti yang dapat terjadi bila kultur dibekukan atau dikeringkan biasa (rusak karena oksidasi). Dengan *freeze-drying* material bahan menjadi awet tanpa mengalami perubahan sifat biologi, kimia dan struktur. Integritas produk tetap terjaga karena matriks es yang kaku menahan padatan dalam bahan tetap pada tempatnya. Pada pengeringan biasa bahan menjadi mengkerut atau mengalami reaksi kimia, kerusakan sel sehingga bahan menjadi tidak dapat digunakan untuk analisis kimia atau tidak lagi indah dipajang. Pada proses *freeze-drying* air dihilangkan dari bahan yang telah dibekukan dengan cara sublimasi, yaitu air dikonversikan ke dalam fase uap tanpa mengalami fase cair.

Kultur bakteri yang paling baik untuk di *freeze-drying* adalah pada akhir fase logaritmik.

Kultur koleksi yang ditumbuhkan pada agar harus dikerok dan dipindah ke cairan pensuspensi. Kultur yang tumbuh dalam media cair dipanen dengan sentrifugasi kemudian diresuspensi menggunakan cairan pensuspensi. Cairan pensuspensi yang dapat digunakan adalah meso-Inositol 5 % dalam serum kuda atau inositol-broth dua setengah persen meso-inositol 5 % dalam air.

Medium pembawa adalah medium yang digunakan untuk melindungi sel selama proses *freeze-drying*. Pemilihan medium pembawa merupakan faktor yang sangat penting untuk menjaga ketahanan hidup (*viabilitas*) dari sel mikroorganisme selama dan sesudah pengeringan. Raper dan Alexander (1945) menggunakan serum sebagai medium pembawa, sedangkan Blackword (1955) dalam Onions (1971) dalam Handayani (1988) menyatakan bahwa media yang mengandung glukosa dapat digunakan sebagai medium pembawa dan skim milk merupakan medium yang lebih baik daripada serum. Anonim (2004), menyatakan bahwa medium pembawa yang dapat digunakan adalah meso-inositol 5 % dalam serum kuda atau inositol-broth 2,5 % meso-Inositol 5 % dalam air. Medium pembawa ini juga sekaligus dapat digunakan sebagai medium peresuspensi untuk sel yang dipanen dari kultur cair.

Permasalahan yang akan dikaji dalam penelitian adalah menentukan 1) jumlah sel *A. xylinum* yang dapat tetap hidup bila starter dikeringkan secara *freeze drying* menggunakan medium pembawa sukrosa dan laktosa, dan 2) konsentrasi medium pembawa (sukrosa dan laktosa) yang dapat melindungi sel *A. xylinum* yang dikeringkan secara *freeze drying*, sehingga mengakibatkan jumlah sel hidup yang tertinggi.

## BAHAN DAN METODE

Populasi dalam penelitian ini adalah kultur *A. xylinum* pada medium fermentasi *nata de pina*, sedangkan sampelnya adalah kultur cair *A. xylinum* pada masa inkubasi 4 hari (akhir fase logaritmik).

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi sukrosa dan laktosa untuk meresuspensi sel *A. xylinum* hasil panen dari kultur cair (medium fermentasi *nata de pina*), yaitu 0, 10, 15 dan 20 % masing-masing untuk sukrosa dan laktosa.

Variabel tergantungnya adalah jumlah sel hidup yang terdapat pada kultur yang telah dikeringbekukan, yang dinyatakan dalam jumlah sel/ml bahan hasil rehidrasi. Variabel kendalinya adalah pH medium, umur kultur, dan kondisi

proses *freeze drying* yang meliputi lama, suhu dan tekanan.

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (petridish, tabung reaksi), autoklaf, *laminar air flow*, timbangan analitik, *freeze dryer*, inkubator, pH meter, *cuebec colony counter*, dan alat-alat untuk isolasi (ose, driglaski, mikropipet, tip).

Bahan yang digunakan adalah kultur murni *A. xylinum* dalam ampul, medium Schramm & Herstin padat, medium Schramm & Herstin cair, dan medium fermentasi nata de pina yang terdiri dari ekstrak nanas, urea (PA), asam asetat glasial, sukrosa (PA) yang pHnya telah diatur pada 4-5.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan kelompok faktorial 2 x 4, dengan dua faktor. Faktor pertama terdiri dari 2 taraf dan faktor kedua terdiri dari 4 taraf. Faktor yang pertama adalah jenis medium pembawa yaitu sukrosa dan laktosa, sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi medium pembawa (medium peresuspensi sel hasil panen kultur cair), yaitu 0, 10, 15 dan 20 % (gr/100 ml). Masing-masing perlakuan diulang 3 kali, sehingga didapatkan 24 unit percobaan.

Kultur cair ini diperoleh dengan cara: kultur murni kering dalam ampul direaktivasi dengan aquadest steril, didiamkan 30 menit dan dituang dalam medium Schramm & Herstin padat dalam petridish steril. Sebanyak 1 ml suspensi hasil reaktivasi kultur kering dituang dalam medium padat, diratakan dengan driglaski, kemudian diinkubasikan dalam inkubator pada suhu 40 °C selama 24 jam. Koloni di atas medium padat diambil satu dan dimasukkan dalam medium Schramm & Herstin cair sebanyak 10 ml. Setelah 3 hari dipindahkan dalam medium Schramm &

Herstin cair sebanyak 90 ml. Setelah 3 hari dipindahkan lagi ke dalam medium fermentasi nata de pina (ekstrak nanas) sebanyak 900 ml dan diinkubasikan kembali selama 4 hari dan siap untuk diperlakukan dengan *freeze drying*.

Kultur cair setelah diinkubasi selama 4 x 24 jam disentrifus pada kecepatan 3500 rpm. Supernatan dibuang, dan massa sel dipindahkan ke tabung vial steril. Selanjutnya massa sel ditambah dengan medium pembawa (sesuai perlakuan) sebanyak 3 ml. Sel *A. xylinum* hasil panen kultur cair dibekukan selama 12 jam, kemudian dikeringkan dalam *freeze dryer* dengan tekanan vakum selama 1 x 24 jam. Kultur *freeze dried* selanjutnya dihitung jumlah sel hidupnya.

Pengujian jumlah sel hidup dalam kultur *freeze dried* menggunakan metode spread plate. Kultur *freeze dried* direaktivasi dengan Schramm & Herstin, didiamkan 30 menit, diambil 1 ml dan dilakukan pengenceran seri menggunakan aquadest steril. Sampel dari pengenceran 10<sup>-5</sup> dan 10<sup>-6</sup> ditanam dalam medium Schramm & Herstin padat dan diinkubasikan selama 24 jam. Jumlah koloni yang muncul dihitung dengan mempertimbangkan syarat-syarat perhitungan jumlah koloni. Jumlah sel hidup adalah jumlah koloni dibagi faktor pengenceran yang dipakai.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

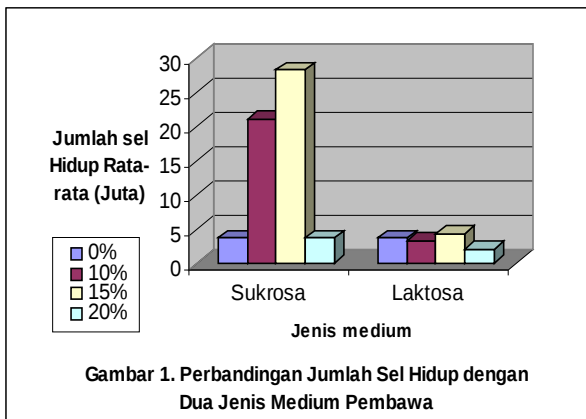
Data utama dari penelitian ini adalah data jumlah sel hidup per ml bahan hasil *freeze drying* yang telah direhidrasi menggunakan medium Schramm & Herstin dalam satuan sel/ml bahan hasil rehidrasi. Data disajikan dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Jumlah sel hidup setelah *freeze drying* dari masing-masing perlakuan

Jenis Medium Pelindung	Konsentrasi	Ulangan	Jumlah Sel Hidup (/ml bahan)	Rata-rata
Sukrosa	0 %	1	3,6 x 10 <sup>6</sup>	3,7 x 10 <sup>6</sup>
		2	3,8 x 10 <sup>6</sup>	
		3	3,7 x 10 <sup>6</sup>	
	10 %	1	22,5 x 10 <sup>6</sup>	21,2 x 10 <sup>6</sup>
		2	19,8 x 10 <sup>6</sup>	
		3	21,2 x 10 <sup>6</sup>	
	15 %	1	17,9 x 10 <sup>6</sup>	28,2 x 10 <sup>6</sup>
		2	36,6 x 10 <sup>6</sup>	

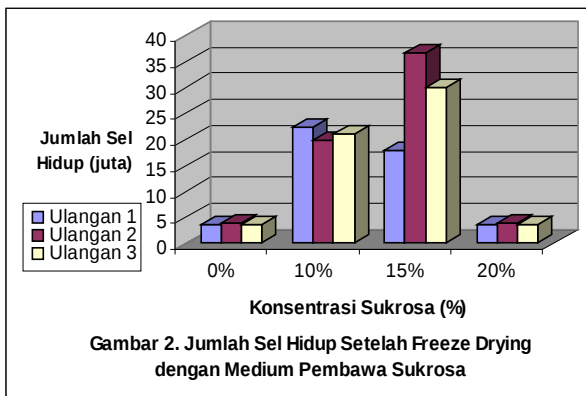
	Ulangan	Jumlah Sel Hidup (Juta)		
		Ulangan 1	Ulangan 2	
<b>Laktosa</b>	20 %	3	$30,0 \times 10^6$	$3,7 \times 10^6$
		1	$3,7 \times 10^6$	
		2	$3,8 \times 10^6$	
	0 %	3	$3,6 \times 10^6$	$3,7 \times 10^6$
		1	$3,8 \times 10^6$	
		2	$3,7 \times 10^6$	
	10 %	1	$2,2 \times 10^6$	$3,3 \times 10^6$
		2	$5,0 \times 10^6$	
		3	$2,6 \times 10^6$	
	15 %	1	$4,3 \times 10^6$	$4,3 \times 10^6$
		2	$2,7 \times 10^6$	
		3	$6,0 \times 10^6$	
20 %	1	$1,7 \times 10^6$	$2,1 \times 10^6$	
	2	$2,4 \times 10^6$		
	3	$2,1 \times 10^6$		

Dari tabel tersebut nampak bahwa jumlah sel hidup setelah *freeze drying* menggunakan medium pembawa sukrosa lebih banyak dibandingkan dengan medium laktosa, dan tidak ada data yang menunjukkan jumlah sel hidup 0. Data dalam bentuk grafik seperti terlihat pada Gambar 1.

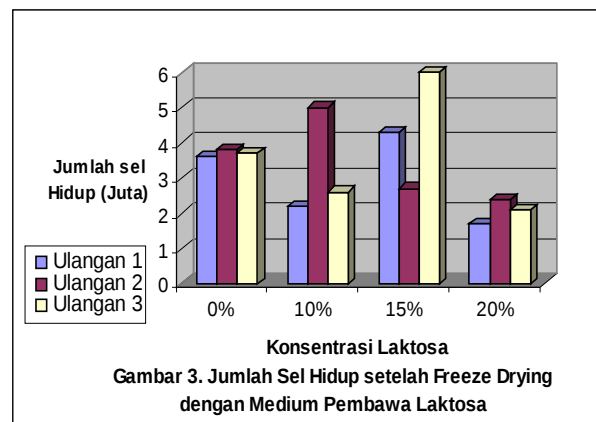


Gambar 1. Perbandingan Jumlah Sel Hidup dengan Dua Jenis Medium Pembawa

Apabila dilihat perbedaan jumlah sel hidup dari masing-masing medium pembawa, didapatkan gambaran sebagai berikut (Gambar 2 dan 3).



Gambar 2. Jumlah Sel Hidup Setelah Freeze Drying dengan Medium Pembawa Sukrosa



Gambar 3. Jumlah Sel Hidup setelah Freeze Drying dengan Medium Pembawa Laktosa

Dari Gambar 2 dan 3 dapat terlihat bahwa perlakuan yang dapat memberikan jumlah sel hidup tertinggi adalah penggunaan medium pembawa sukrosa 15 % dan laktosa 15 %. Pada perlakuan menggunakan sukrosa 20 % jumlah sel hidup yang didapatkan sama dengan kontrol (sukrosa 0 %), tetapi pada perlakuan menggunakan laktosa 20 % jumlah sel yang didapatkan justru lebih rendah dari kontrol (laktosa 0 %). Dari penelitian didapatkan bahwa tidak ada perlakuan yang memberikan jumlah sel hidup 0. Hal ini menunjukkan bahwa kultur sel *A. xylinum* memiliki ketahanan yang tinggi pada perlakuan pembekuan, pencairan kembali dan pengeringan selama proses *freeze drying*, seperti halnya bakteri *Pantoea agglomerans*. Kedua bakteri bersifat gram negatif (Costa *et al.* 2000).

Proses *freeze drying* pada penelitian ini menggunakan medium pembawa sukrosa dan laktosa. Perlindungan yang diberikan oleh medium pembawa yang ditambahkan selama proses *freeze drying* besarnya bervariasi tergantung pada spesies mikroorganisme (Font de Valdez *et al.* dalam Costa *et al.* 2000).

Hasil menunjukkan bahwa jumlah sel hidup lebih tinggi pada kultur kering yang pada proses

*freeze drying* ditambah dengan medium pelindung sukrosa 15 %. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian yang diperoleh Costa *et al.* (2000) pada perlakuan *freeze drying* terhadap bakteri *Pantoea agglomerans*, yaitu dari kelompok sakarida sebagai medium pembawa (protektan) ternyata yang memberikan viabilitas tertinggi adalah sukrosa. Akan tetapi konsentrasi yang digunakan adalah 10%. Hasil penelitian yang kami lakukan memberikan indikasi bahwa untuk proses *freeze drying* kultur *A. xylinum*, medium yang prospektif adalah sukrosa 15 %.

Laktosa yang digunakan tidak cukup memberikan perlindungan pada sel-sel *A. xylinum* yang mengalami proses *freeze drying*, berbeda dengan sukrosa yang memberikan perlindungan lebih baik (Tabel 1 dan Gambar 1). Hal ini sejalan yang diperoleh oleh Costa *et al.* (2000) bahwa proses *freeze drying* bakteri *Pantoea agglomerans* memberikan ketahanan hidup yang lebih rendah bila digunakan medium pelindung laktosa (konsentrasi 7 %).

Perbedaan sifat melindungi sel yang diberikan oleh kelompok disakarida ini

berhubungan dengan kapasitas mengikat air dan pencegahan pembentukan kristal es dari cairan intra dan ekstraseluler. Sukrosa cenderung lebih sulit untuk mengkristal daripada laktosa.

Efek perlindungan yang juga diberikan oleh kelompok disakarida adalah perannya dalam menggantikan komponen air yang menyusun membran sel bakteri setelah proses penghilangan air (dehidrasi) pada saat dilakukan proses *freeze drying* (Clegg, Crowe & Crowe dalam Costa *et al.* 2000).

Data pendukung yang diperoleh untuk memperjelas data utama adalah data: kehilangan air (%) dan kenampakan fisik bahan hasil *freeze drying*. Data pendukung secara terperinci disajikan sebagai berikut.

**Kehilangan Air (%)**

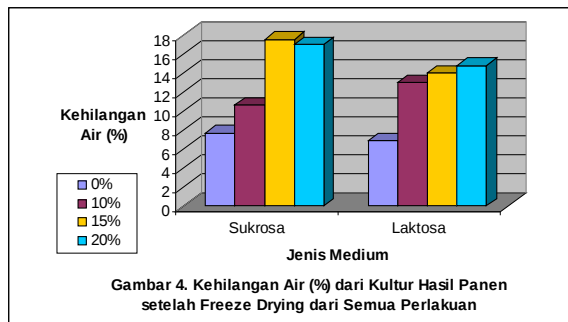
Persentase hilangnya air dari kultur *A. xylinum* yang dikering-bekukan disajikan dalam Tabel 2.

**Tabel 2.** Kehilangan air (%) dari kultur *A. xylinum* yang dicapai setelah proses *freeze drying*

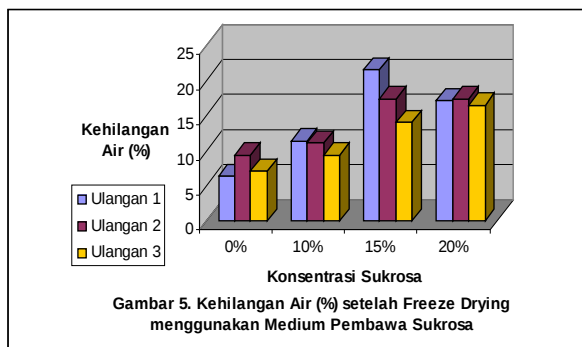
Jenis Medium Pembawa	Konsentrasi	Ulangan	Kehilangan Air (%)	Rata-rata
Sukrosa	0 %	1	6,4	7,7
		2	9,4	
		3	7,1	
	10 %	1	11,4	10,6
		2	11,1	
		3	9,4	
	15 %	1	21,5	17,6
		2	17,4	
		3	14,0	
	20 %	1	17,1	17,0
		2	17,4	
		3	16,5	

Jenis Medium Pembawa	Konsentrasi	Ulangan	Kehilangan Air (%)	Rata-rata
Laktosa	0 %	1	10,5	6,9
		2	10,4	
		3	0,8	
	10 %	1	12,5	13,0
		2	14,6	
		3	11,8	
	15 %	1	14,5	14,0
		2	15,9	
		3	11,6	
	20 %	1	14,3	14,8
		2	16,3	
		3	13,8	

Dari data pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa kehilangan air yang dicapai melalui proses *freeze drying* menggunakan medium pembawa sukrosa lebih besar dibandingkan dengan yang menggunakan medium pembawa laktosa. Perbedaan yang dicapai sebagai dampak dari penggunaan medium pembawa sukrosa dan laktosa dapat diikuti pada Gambar 4.



Gambar 4. Kehilangan Air (%) dari Kultur Hasil Panen setelah Freeze Drying dari Semua Perlakuan



Gambar 5. Kehilangan Air (%) setelah Freeze Drying menggunakan Medium Pembawa Sukrosa

Dari Gambar 5 terlihat bahwa pada penggunaan medium pembawa sukrosa, perlakuan yang memberikan kehilangan air terbesar adalah sukrosa 15 %, sedangkan dari Gambar 6 pada penggunaan medium pembawa laktosa perlakuan laktosa 15 dan 20 % tidak nyata berbeda tetapi nilainya lebih besar dari perlakuan laktosa 10 %.

Prosentase kehilangan air yang dicapai menunjukkan perbedaan antara perlakuan tanpa medium pembawa (kontrol) dengan yang menggunakan medium pembawa. Nilai lebih besar dicapai oleh perlakuan menggunakan medium sukrosa 15 %. Hasil yang lebih besar dibandingkan control mengindikasikan bahwa proses *freeze drying* menggunakan medium pembawa memberikan produk kering yang lebih kering, ringan dan porous.

Sifat ini mendukung harapan bahwa starter nata cair dapat diubah menjadi bentuk kering beku yang lebih sesuai sebagai penyedia starter nata yang mudah dikelola disimpan dan didistribusikan. Bentuk kering juga lebih optimal sebagai starter, lebih stabil dan lebih aplikatif. Sel bakteri dalam bentuk kering juga memiliki

kelebihan, yaitu tidak membutuhkan temperatur rendah selama penyimpanan dan distribusi sehingga produk lebih ekonomis.

Bahan yang lebih kering, ringan dan berstruktur porous akan lebih mudah mengalami rehidrasi kembali (Costa *et al.* 2000). Proses rehidrasi yang lebih mudah dan cepat dapat memberikan proses perbaikan kembali sel-sel yang telah mengalami pengeringan, sehingga metabolisme kembali normal dan sel tidak mengalami kerusakan lanjut.

#### Kenampakan Fisik Bahan Hasil *Freeze Drying*

Kenampakan fisik bahan hasil *freeze drying* dari semua perlakuan adalah bahan menjadi kering dan porous. Apabila dibandingkan antar perlakuan nampak bahwa perlakuan penggunaan sukrosa memberikan bahan hasil *freeze drying* yang lebih kering dan porous dibandingkan dengan yang menggunakan laktosa dan kontrol.

Pada bahan yang menggunakan laktosa, nampak bahwa larutan laktosa yang ditambahkan tidak dapat menempel dengan baik pada kultur yang dikeringkan. Terlihat sisa laktosa kering yang justru menempel pada dinding tabung vial yang digunakan. Kenampakan fisik ini dapat diikuti pada Gambar 7 dan 8.



Gambar 7. Kenampakan Fisik Bahan Hasil *Freeze Drying* dari Semua Perlakuan



**Gambar 8.** Kenampakan Fisik Bahan Hasil *Freeze Drying* antar Perlakuan Menggunakan Sukrosa dan Laktosa

Secara fisik jelas terlihat bahwa kultur bakteri yang dikeringkan menggunakan medium pembawa bersifat lebih porous dan kering (Gambar 7). Apabila dibandingkan antar perlakuan penambahan medium, maka yang ditambahkan dengan medium sukrosa memberikan kenampakan fisik lebih baik.

Perlakuan dengan medium laktosa menunjukkan bahwa banyak larutan laktosa yang menempel pada dinding tabung. Hal ini sesuai dengan sifat laktosa yang dikemukakan sebelumnya bahwa laktosa cenderung lebih mudah mengkristal dibandingkan sukrosa, sehingga selama proses *freeze drying* laktosa telah mengkristal terlebih dulu sebelum mampu melindungi sel bakteri.

Analisis data jumlah sel hidup dan kehilangan air (%) menggunakan ANAVA dua jalan menunjukkan bahwa: 1). Jenis *carrier medium* yang digunakan memberikan perbedaan yang signifikan terhadap jumlah sel hidup dari bahan yang direhidrasi kembali dengan medium Schramm & Hestrin. Akan tetapi perbedaan konsentrasi dan juga pengaruh dari kedua jenis medium pada konsentrasi yang berbeda tidak berbeda secara signifikan. Jenis *carrier medium* yang berbeda tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap banyaknya air yang hilang dari kultur *A. xylinum* ketika dilakukan *freeze drying*. Konsentrasi dari masing-masing medium yang berbeda dan pengaruh jenis medium pada konsentrasi yang berbeda juga tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kehilangan air.

Dari dua kenyataan pada analisis data secara statistik untuk pengaruh jenis *carrier medium* dengan konsentrasi yang berbeda terhadap jumlah sel hidup dan banyak air yang hilang dari kultur *A. xylinum* yang dikering-bekukan, ternyata yang memberikan perbedaan hasil secara signifikan adalah jenis *carrier medium* terhadap jumlah sel hidup dari kultur yang direhidrasi kembali menggunakan medium Schramm & Hestrin.

Medium sukrosa dan laktosa memang memiliki karakter yang berbeda, walaupun sama-sama dari kelompok disakarida. Sukrosa lebih sulit untuk mengkristal dibandingkan dengan laktosa pada saat dilakukan pembekuan, sehingga cairan intra dan ekstrasel dari bakteri tertahan lebih lama untuk tidak menjadi beku. Keadaan ini menyebabkan sel juga lebih lama dalam keadaan

metabolisme normal. Kondisi beku dapat membawa sistem metabolisme bakteri menjauhi normal.

Kehilangan air dari kultur yang dikering-bekukan dicoba diamati bila digunakan jenis *carrier medium* dengan konsentrasi yang berbeda. Ternyata memberikan hasil tidak berbeda nyata pada banyaknya air yang hilang. Hal ini dapat diterima karena walaupun digunakan *carrier medium* yang berbeda tetapi jumlah air dalam sel bakteri tetap sama. Angka kehilangan air lebih besar pada kultur yang dikering-bekukan menggunakan sukrosa karena adanya perbedaan sifat kemudahan untuk menjadi kristal es dari laktosa. Bahan yang lebih mudah mengkristal (laktosa) akan merubah cairan sel cepat menjadi es, sehingga air ditahan dalam bentuk kristal.

**PENUTUP**

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan jumlah sel hidup tertinggi yang dapat dicapai pada proses pengeringan kultur *A. xylinum* secara *freeze drying* menggunakan medium pembawa sukrosa dan laktosa adalah  $28,2 \cdot 10^6$  sel/ml bahan hasil rehidrasi menggunakan medium Schramm & Herstin, dan 2) medium pembawa yang dapat melindungi sel *A. xylinum* lebih baik selama proses *freeze drying* adalah sukrosa dengan konsentrasi 15%.

**DAFTAR PUSTAKA**

Anonim. 2004. Lyophilization/Freeze Drying: Technologies, Rehydration, Drugs, Binders, Matrixes, Powders, Media, Solubility, Wettability, Medical Device Consultant; Pharmaceutical Consultants. [www.Technobusiness\\_solutions.com/article-Lyo.1.html](http://www.Technobusiness_solutions.com/article-Lyo.1.html).

Bielecki S. 2004. *Bacterial Cellulose*. Polandia.

Brown RM. 2004. Position paper, Microbial Cellulose: A New Resource for Wood, Paper, Textiles, Food and Specialty Products.

Costa E et. al. 2000. Effect of protective agents, rehydration media and initial cell concentration on viability of *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 subjected to freeze drying. *Journal of Applied Microbiology* 89:793-800.

Pramesti D. 2004. Starter nata kering-beku: prospek dan potensinya pada pembuatan

- nata de radia. Laporan Penelitian.* FMIPA – UNNES. Semarang.
- Handayani YD. 1988. Aktivitas Starter dalam Bentuk Kering-Beku pada Produksi Yoghurt. *Skripsi.* Yogyakarta : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.
- Issac S, Jennings D. 1995. *Microbial Culture.* BIOS Scientific Publishers. Oxford-UK.
- Palungkun R. 1993. *Aneka Produk Olahan Kelapa.* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Saxena IM, Dandekar T, Brown TM. 2004. *Mechanism in cellulose biosynthesis.* <http://www.Esf.Edu/ce/conferences/cell.pdf/saxena>. [.....]