

PEMBUATAN DEXTRAN SECARA FERMENTASI

Oleh
Ir. Karsini *)

SUMMARY

Dextran is a polysaccharide synthesized by bacteria, including those belonging to the genera of *Leuconostoc*, *Streptobacter*, or related forms. Its principal utility now lies in its ability to serve as a blood plasma volume expander.

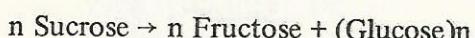
Dextran's chemical and physical properties depend upon both the strain of microorganism employed, and the environmental conditions imposed upon the bacterium during growth or the reaction conditions imposed upon the bacterium during growth or the reaction conditions where an enzymatic method of dextran production is employed.

Leuconostoc and *Streptococcus* species convert sucrose to dextran and fructose primarily.

Acetobacter species convert dextrin to dextran, and its by product fructose this transformation is mediated by an enzyme, dextran sucrase. Its readily obtained extracellularly from suitable strains of *Leuconostoc mesenteroides* propagated under appropriate conditions.

I. PENDAHULUAN

Dextran adalah suatu polysaccharide yang tersusun dari unit-unit d-Glucopyranose, unit-unit tersebut dihubungkan dengan pertolongan ikatan 1,6 ; 1,4 dan 1,3 glycosidic (Prescott & Dunn, 1959). Dextran dapat disintesa dari sucrose dengan pertolongan bakteri *Leuconostoc mesenteroides* dengan reaksi:



Enzyme yang mengkatalisa adalah dextran sucrase, dan reaksi tersebut merupakan reaksi transglucosidase (Fruton & Simmonds, 1953). Menurut Breed et al (1948), *Leuconostoc mesenteroides* adalah suatu jenis bakteri yang berbentuk bulat, gram positif, dan tidak dapat membentuk indol.

Suhu optimum 21 – 25°C dan merupakan bakteri fakultatif aerob. Dapat diisolasi dari sayuran yang telah mengalami fermentasi, bahan-bahan tanaman lainnya dan terutama dari larutan gula yang berlendir. Sifatnya yang khusus yaitu membentuk lendir secara aktif dalam larutan sucrose.

Dalam pabrik gula dapat terbentuk dextran karena dalam cairan tebu yang akan dijadikan gula tersebut kemungkinan besar terdapat jenis bakteri *Leuconostoc*, ini yang akan merubah sucrose menjadi dextran. Hal ini bagi pabrik merugikan sebab akan mengurangi jumlah sucrose yang akan dihasilkan sebagai gula pasir. Tetapi dalam lapangan kedokteran dextran digunakan untuk memperbesar volume plasma darah.

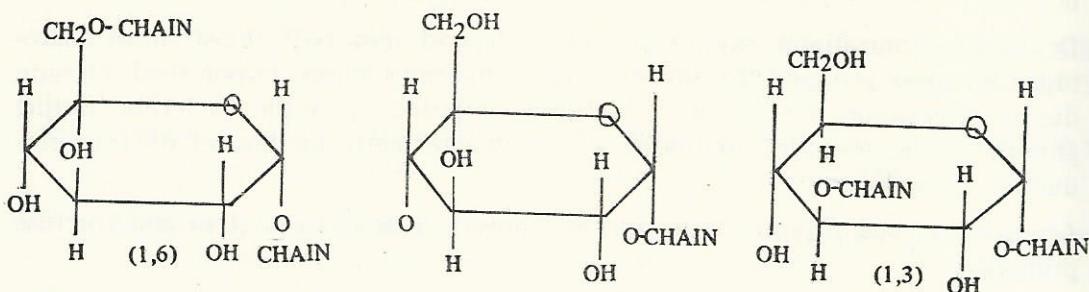
*) Kepala Balai Penelitian Kimia Organik dan Fermentasi, Balai Besar Industri Kimia.

Keuntungan:

1. Dapat disterilkan dengan pemanasan
2. Dapat disimpan tanpa pendinginan
3. Tidak dapat ditumbuh virus yang bisa menyebabkan infeksi pada hepar
4. Tidak menyebabkan sedimentasi - sel-sel darah.

Dextran merupakan zat yang tidak berwarna dan mempunyai Berat Molekul yang sangat tinggi (Prescott & Dunn, 1959).

Struktur dextran (Prescott & Dunn, 1959).:



Jadi strukturnya hampir sama dengan pati dan dextrin.

Perbedaan antara ketiga zat tersebut adalah dalam hal reaksinya dengan jood.

Dextran dengan jood tidak memberikan warna (FRUTON & SIMMONDS, 1953), sedangkan pati memberikan warna biru dan dextrin merah coklat. Bakteri yang dapat menghasilkan dextran – sucrase selain *Leuconostoc mesenteroides* antara lain (PRESCOTT & DUNN, 1959):

- *Phytomonas tumefacient*
- *Streptococcus*
- *Streptobacterium* dan
- *Acetobacter*.

Maksud penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan antara kadar sucrose terhadap hasil fermentasi dextran yaitu prosentase berat dextran yang dihasilkan.

Untuk fermentasi bakteri yang digunakan diisolasi sendiri dari cairan tebu, air kelapa dan air rendaman kubis.

II. BAHAN DAN METODA PENELITIAN

1. ISOLASI BAKTERI

Bakteri yang digunakan diisolasi dari:

- cairan tebu
- air rendaman kubis
- air kelapa

yang telah dibiarkan mengalami fermentasi selama beberapa hari, sampai terbentuk selaput putih.

Metoda yang kita gunakan untuk isolasi adalah metoda penaburan (pour plate). Medium untuk pertumbuhan adalah medium pepton – yeast extract – agar (tryptose diganti pepton) (MC. CLESKEY et al, 1947).

2. PENGAMATAN MIKROSKOPIS

Pengamatan bakteri secara mikroskopis dengan pengecatan gram.

3. PENGUJIAN SIFAT-SIFAT BIOKIMIA

Untuk determinasi bakteri kita lakukan pengujian yang sesuai dengan sifat-sifat *Leuconostoc mesenteroides*, yaitu pembentukan asam dari glucose, sucrose dan laktose dengan tabung Durham, medium yang digunakan masing-masing glucose, sucrose, dan laktose fermentation broth (SALLE, 1954).

Untuk melihat perubahan nitrat menjadi nitrit digunakan cara menurut SALLE (1954), media yang digunakan nitrat broth.

Untuk mengetahui pembentukan lendir dalam medium yang mengandung sukrose digunakan medium sucrose broth yang diinokulasi dengan biakan bakteri yang telah diperoleh.

4. PERCOBAAN PENDAHULUAN

Percobaan ini dilakukan untuk menentukan jenis bakteri yang paling banyak menghasilkan dextran. Di sini kadar sucrose yang digunakan 20% dan susunannya sama dengan medium pada fermentasi yang sesungguhnya (susunan menurut JEANES et al 1956).

CARA KERJA:

10 cc medium dalam tabung reaksi disterilkan, diinokulasi dengan bakteri yang telah diperoleh. Diinkubasikan selama 5 hari pada suhu kamar kemudian dilakukan pengendapan bakteri (JEANES et al 1956) yaitu dengan menambahkan alkohol 96% sampai kadarnya 35%, kemudian dicentrifuge selama 15 menit. Bakteri mengendap dan dipisahkan.

Setelah itu dilakukan pengendapan hasilnya, cairan supernatan (cairan setelah endapan dipisahkan) ditambah alkohol 96% sampai kadarnya 50%, kemudian dicentrifuge selama 20 menit dan endapannya disaring kemudian dikeringkan dan ditimbang sampai berat konstan. Suhu pengeringan di bawah 100°C.

Dari hasil penimbangan akan diketahui dextran yang paling banyak yang dihasilkan oleh bakteri yang terkuat yang akan digunakan untuk percobaan selanjutnya.

5. FERMENTASI

Kadar sucrose divariasi: 10%, 20%, 30%, 40%.

Susunan medium fermentasi menurut JEANES et al (1956).

Fermentasi dilaksanakan dalam labu 250 cc dan starter dalam tabung reaksi. Banyaknya medium masing-masing 50 cc terdiri dari 5 cc starter dan 45 cc larutan induk.

Untuk masing-masing kadar dibuat 3 kali ulangan dan 1 kontrol. Lebih dahulu tiap-tiap starter diinokulasi dengan bakteri yang telah ditentukan dalam percobaan pendahuluan, kemudian diinkubasikan 1 hari pada suhu kamar.

Setelah itu starter dituangkan kedalam larutan induk secara aseptis dan diinkubasikan 1 hari pada suhu kamar. Fermentasi selama 5 hari.

Kemudian dilakukan analisa kwalitatif dan kwantitatif, terhadap dextran yang telah dihasilkan.

6. ANALISA KWALITATIF

Di sini belum didapatkan pustaka yang menyebutkan tentang cara yang pasti untuk analisa kwalitatif terhadap dextran.

Dalam percobaan ini dilakukan cara analisa sebagai berikut:

Hasil yang telah ditimbang ditetesi yood. Jika hasilnya tidak memberikan warna berarti bukan pati dan bukan dexrin (kira-kira dextran).

7. ANALISA KWANTITATIF

Setelah hasilnya diendapkan dengan alkohol, kemudian disaring dengan kertas filter. Supaya penyaringannya cepat maka dilakukan dengan vacuum pump. Kemudian dikeringkan (di bawah 100°C) dan ditimbang sampai berat tetap.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. HASIL PENGAMATAN DAN PENIMBANGAN

1. Pengamatan bakteri secara mikroskopis: TABEL 1.

Sumber bakteri	Pengecatan	Bentuk sel
1. Cairan tebu	+	bulat
2. Air rendaman kubis	+	bulat
3. Air kelapa	+	bulat

2. Pengujian biokimia: TABEL 2

Macam pengujian	Sumber bakteri		
	Air kubis	Air kelapa	Cairan tebu
1. Reduksi nitrat	+	+	+
2. Pembentukan indol	-	-	-
3. Pembentukan asam dalam medium sucrose ferm. broth	+	+	-
4. Pembentukan asam dalam medium glucose ferm. broth	+	+	+
5. Pembentukan asam dalam medium lactose ferm. broth	+	+	+
6. Pembentukan lendir dalam medium sucrose broth	+	+	+
7. Pertumbuhan dalam medium kentang	+	+	+
8. Pembentukan gas dalam medium:			
- glucose ferm. broth	-	-	-
- sucrose ferm. broth	-	-	-
- lactose ferm. broth	-	-	-

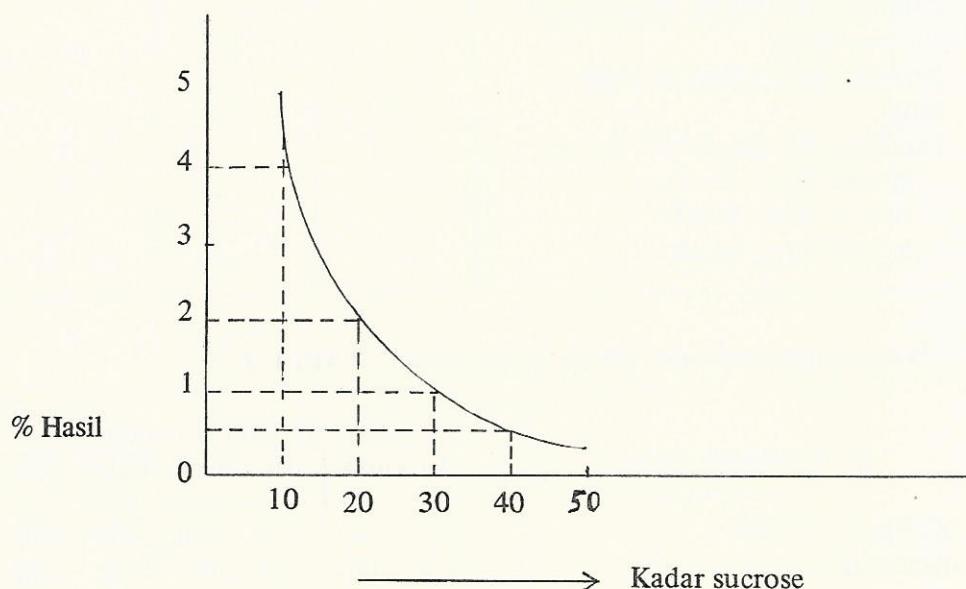
3. Penimbangan pada percobaan pendahuluan : TABEL 3.

Penimbangan (m gr.)	Bakteri Sumber bakteri:					
	Air kubis		Air kelapa		Cairan tebu	
1. Kertas mula-mula	400	340	330	380	355	330
2. Kertas zat (I)	550	490	425	480	526	480
3. Kertas zat (II)	549	489	425	479	524	479
Berat zat	149	149	95	99	169	149
Rata-rata		149		97		159

4. Penimbangan pada percobaan sesungguhnya: TABEL 4

Penimbangan (m gr.)	Kadar sucrose					
	10%		20%			
1. Kertas mula-mula	789,8	450,2	479,6	449,8	445,5	460,0
2. Kertas zat (I)	1051,0	665,0	670,0	614,0	620,0	645,0
3. Kertas zat (II)	1051,0	654,0	669,0	614,0	619,0	644,0
Berat bahan	261,2	203,8	189,4	164,2	173,5	184,0
Rata-rata		218,13			173,9	
Prosentase hasil (%)	5,224	4,076	3,788	1,642	1,735	1,84
Rata-rata		4,363			1,739	
	30%		40%			
1. Kertas mula-mula	461,0	465,5	469,0	460,5	441,0	465,0
2. Kertas zat (I)	639,4	645,6	656,0	611,0	599,5	615,9
3. Kertas zat (II)	639,0	644,0	654,0	610,2	599,0	614,7
Berat bahan	178,0	178,5	185,0	149,7	158,0	149,7
Prosentase hasil (%)	1,186	1,19	1,233	0,749	0,79	0,749
Rata-rata		1,200			0,763	

5. Grafik hubungan antara kadar sucrose dengan % hasil



B. PEMBAHASAN

Dari hasil-hasil pengamatan mikroskopis dan pengujian biokimia maka dapat diperkirakan bahwa bakteri yang diperoleh termasuk jenis *Leuconostoc mesenteroides* seperti disebutkan dalam bab pendahuluan.

Yang terutama bahwa jenis bakteri yang telah diisolasi tersebut dapat menghasilkan lendir dari sucrose yang diduga adalah dextran.

Dugaan ini diperkuat dengan hasil pengujian kualitatif pada percobaan ini yaitu bahwa lendir yang dihasilkan tersebut tidak memberikan warna dengan jood, jadi bukan pati atau dextrin.

Tetapi walaupun demikian juga belum dapat dipastikan bahwa lendir itu adalah dextran karena menurut FRUTON & SIMMONDS (1953) dextran dan levan adalah menyerupai lendir yang kedua-duanya tidak memberikan warna dengan jood.

Kalau dextran merupakan polymer glucose maka levan adalah polymer fructose. Jadi perbedaannya terletak pada unit-unit penyusun polymer tadi. Kedua zat tersebut dapat dinyatakan dari sucrose, tergantung pada jenis bakteri yang digunakan.

Jadi dalam percobaan ini kemungkinan zat lendir tadi adalah dextran, tetapi mungkin pula levan, karena belum dapat ditentukan dengan pasti jenis bakteri yang telah isolasi yang digunakan untuk percobaan, serta belum diperoleh cara membedakan kedua macam zat tersebut (dextran dan levan).

Dari hasil perhitungan secara analisa varian dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan antara prosentase zat yang dihasilkan pada kadar sucrose yang berbeda. Makin tinggi kadar sucrose, makin kecil prosentase hasilnya.

Kemungkinan hal ini disebabkan karena makin tinggi kadar sucrose maka pertumbuhan bakteri makin berkurang, sehingga enzyme yang dihasilkan juga makin menurun.

Tetapi apakah pada kadar sucrose kurang dari 10% hasilnya akan lebih tinggi, hal itu tidak kita ketahui karena belum kita lakukan percobaan.

Jadi belum dapat ditentukan kadar sucrose yang optimum dalam menghasilkan zat tersebut.

Banyaknya gula (sucrose) yang tidak difерментasi tidak kita hitung, karena dalam hal ini tujuan utama kita hanya mencari prosentase hasil terhadap sucrose yang digunakan.

V. KESIMPULAN

1. Jenis bakteri yang diperoleh belum positif menghasilkan dextran (mungkin levan).
2. Di antara 3 macam bakteri yang diisolasi, maka yang berasal dari cairan tebu yang paling banyak menghasilkan lendir.
3. Hasilnya (prosentasenya terhadap substrat) menurun dengan makin naiknya kadar substrat (sucrose) yang digunakan.
4. Dalam percobaan ini masih belum diketahui kadar optimum sucrose untuk menghasilkan dextran.

DAFTAR PUSTAKA

- BREED, R.S., MURRAY, E.G.D., HITCHENS, A.P., Bergeys Manual of Determinative Bacteriology, sixth edition, The William & Wilkins Company, P.346–347, (1948).
- FRED, E.B., WAKSMAN, S.A., Laboratory Manual of General Microbiology First edition, Mc Graw – Hill Book Company, Inc., New York, London, (1928)
- FRUTON, J.S., SIMMONDS, SOFIA, General Biochemistry, second edition, John Wiley & Sons, Inc, Tokyo, p.451–452 (1953).
- PREScott, S.C., DUNN, C.G., Industrial Microbiology, third edition Mc Graw – Hill Book Company, Inc., New-York, Toronto, London, p.370 – 389 (1959).
- SALLE, A.J., Laboratory Manual on Fundamental Principles of Bacteriology, Fourth edition, Mc Graw – Hill Book Company, Inc., New York, Toronto, London (1954).
- JEANES, A., W.C., HAYNES, C.A., WILHAN, Characterization of dextrans from Four Types of *Leuconostoc mesenteroides*, Jour. Bact., 71:167 – 173 (1956).

L A M P I R A N

1. Susunan medium untuk isolasi (pertumbuhan) bakteri:

– sukrose	:	100 gr
– yeast extract	:	5 gr
– pepton	:	10 gr
– agar-agar	:	20 gr
– aquadest sampai volume	:	1000 cc.
		pH : 6 – 7

Pembuatan yeast extract:

– yeast	:	10 gr
– aquadest	:	1000 cc.

disterilkan pada 110°C selama 15'. Dibiarkan sampai zat padatnya mengendap. Kemudian dari supernatannya ditentukan total solidnya.

Cara: 10 cc supernatan diuapkan dalam cawan porselin yang telah ditimbang, sampai berat konstan, kemudian dapat diketahui total solidnya. Dari percobaan ini kita peroleh total solid = 0,056 gr/10 cc extract. Jadi extract yang digunakan demikian banyak hingga total solidnya memenuhi susunan medium di atas.

2. Susunan medium untuk pengujian pembentukan indol:

- meat extract : 3 gr
 - pepton : 10 gr
 - aquadest sampai volume : 1000 cc.
- pH kira-kira 7,2.

Yang dipakai medium triptophan/hydrolisa casein.

3. Susunan medium untuk pengujian pembentukan nitrit (perubahan nitrat menjadi nitrit).

- Meat extract : 3 gr
 - pepton : 5 gr
 - potassium nitrat : 1 gr
 - aquadest sampai volume : 1000 cc.
- pH kira-kira 7,2.

4. Susunan medium untuk pengujian pembentukan asam/gas:

- Meat extract : 3 gr
 - pepton : 5 gr
 - sukrose/glukose/laktose : 5 gr
 - indikator B.T.B. (1,6%) : 1 cc
 - aquadest sampai volume : 1000 cc
- pH kira-kira 7.

5. Susunan medium untuk pembentukan lendir dalam sukrose:

- meat extract : 3 gr
 - pepton : 5 gr
 - sukrose : 5 gr
 - aquadest sampai volume : 1000 cc
- pH kira-kira : 7 cc

6. Susunan medium untuk fermentasi:

- pepton : 0,25 %
 - K_2HPO_4 : 0,5 %
 - yeast extract : 0,5 %
 - aquadest sampai volume : 1000 cc
- pH kira-kira : 7,4.

penambahan sukrose masing-masing untuk percobaan:

10%, 20%, 30%, 40%.

PERHITUNGAN/ANALYSA VARIAN HASIL FERMENTASI.

% hasil	Kadar sukrose			
	10%	20%	30%	40%
	5,224	1,642	1,186	0,749
	4,076	1,735	1,19	0,79
	3,788	1,84	1,233	0,749
Rata-rata	$X_1 = 4,363$	$X_2 = 1,739$	$X_3 = 1,200$	$X_4 = 0,763$
	$s_1^2 = 0,585$	$s_2^2 = 0,015$	$s_3^2 = 0,001$	$s_4^2 = 0,005$
	$n = 3$	$k = 4$		

$$\text{Rata-rata dari } X (\bar{X}) = \frac{4,363 + 1,739 + 1,200 + 0,763}{4} = 2,016$$

$$\text{Varian di antara } X = \frac{(X_1 - \bar{X})^2 + (X_2 - \bar{X})^2 + (X_3 - \bar{X})^2 + (X_4 - \bar{X})^2}{4 - 1} =$$

$$= \frac{2,347^2 + (-0,277)^2 + (-0,816)^2 + (-1,253)^2}{3}$$

$$= \frac{5,508 + 0,077 + 0,666 + 1,570}{3}$$

$$= \frac{7,821}{3} = 2,607.$$

$$V_x^2 = 2,607$$

$$V_x^2 = T^2 / 3 (T^2 / n) ----- T^2 / 3 = 2,607$$

$$T^2 = 3 \times 2,607 = 7,821.$$

$$\text{Varian di dalam } X = \frac{0,585 + 0,015 + 0,001 + 0,0005}{4}$$

$$= \frac{0,6015}{4} = 0,1504.$$

$$F = \frac{7,821}{0,1504} = 52,001 \quad a = 0,05.$$

$$d.f. = k - 1, K(n-1) = 3,8 ----- F_{0,05} = 4,07.$$

F lebih besar dari $F_{0,05}$ jadi ada perbedaan.