# PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI LIMBAH NANAS OLEH MIKROBA ISOLAT LOKAL Kc-D-4

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Nurbaiti**
**1757011012**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**
**UNIVERSITAS LAMPUNG**
**BANDAR LAMPUNG**
**2022**

# ABSTRAK

## PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI LIMBAH NANAS OLEH MIKROBA ISOLAT LOKAL Kc-D-4

**Oleh**

**Nurbaiti**

Produksi *bacterial nanocellulose* (BNC) umumnya menggunakan glukosa sebagai sumber karbon pada medium Hestrin-Schramm (HS) cair. Limbah nanas berpotensi sebagai sumber karbon alami dalam media fermentasi untuk produksi BNC karena mengadung karbohidrat sebesar 17,53%. Penggunaan limbah nanas sebagai sumber karbon alternatif pengganti glukosa diharapkan meminimalisir biaya produksi BNC. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri penghasil BNC dari kombucha dan memperoleh kondisi optimum produksi BNC menggunakan sumber karbon dari limbah nanas. Produksi BNC dilakukan dengan menggunakan medium HS cair yang dimodifikasi glukosanya menggunakan limbah nanas dengan variasi konsentrasi 2%, 4%, 6%, dan 8 %. Produksi BNC dilakukan dengan variasi keadaan fermentasi (statis dan agitasi dengan kecepatan 150 rpm) dan variasi waktu inkubasi (7, 14, dan 21 hari). Parameter yang diukur meliputi berat pelikel BNC dan *Water Hold Capacity* (WHC). Pelikel BNC yang diperoleh pada kondisi optimum dikarakterisasi menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Hasil penelitian diperoleh isolat Kc-D-4 yang mampu menghasilkan BNC. Produksi BNC oleh isolat Kc-D-4 pada sumber karbon limbah nanas optimum pada konsentrasi 8% dan waktu inkubasi 14 hari dalam keadaan statis. Pada kondisi tersebut dihasilkan berat basah pelikel BNC sebesar 10,2 g dengan WHC sebesar 97,30%. Hasil karakterisasi BNC menggunakan SEM menunjukkan morfologi struktur jaringan serat saling berhubungan dan rapat serta memiliki serat berukuran nano dengan diameter 39-65 nm.

Kata kunci: *Bacterial Nanocellulose* (BNC), Kombucha, Limbah Nanas, Medium Hestrin-Schramm (HS) cair, Sumber Karbon.

## ABSTRACT

**PRODUCTION OF BACTERIAL NANOCELLULOSE (BNC) FROM PINEAPPLE WASTE BY Kc-D-4 LOCAL ISOLATE MICROBE**

**By**

**Nurbaiti**

The production *of bacterial nanocellulose* (BNC) generally uses glucose as a carbon source in a liquid Hestrin-Schramm (HS) medium. However, the pineapple waste can be a natural carbon source in the fermentation medium for BNC production because it contains 17.53% carbohydrates. The use of pineapple waste as an alternative source of carbon in place of glucose is expected to minimize the cost of BNC production. This study is aimed to obtain isolates of BNC-producing bacteria from kombucha and obtain optimum conditions for BNC production using carbon sources from pineapple waste. BNC production was carried out using a modified liquid HS medium using pineapple waste with variations in concentrations of 2%, 4%, 6%, and 8%. In addition, BNC production was carried out with variations in fermentation conditions (static and agitate at a speed of 150 rpm) and variations in incubation time (7, 14, and 21 days). The parameters measured include the BNC's pellicle weight and *Water Hold Capacity* (WHC). BNC pellicle obtained under optimum conditions was characterized using SEM (*Scanning Electron Microscopy*). The results of the study obtained Kc-D-4 isolates capable of producing BNC. Production of BNC by Kc-D-4 isolates at the optimum pineapple waste carbon source at a concentration of 8% and an incubation time of 14 days in a static state. In these conditions, the wet weight of BNC is produced at 10.2 g with a WHC of 97.30%. The results of BNC characterization using SEM showed the morphology of the fiber network structure is interconnected and tight and has nano-sized fibers with a diameter of 39-65 nm.



Keywords: Bacterial Nanocellulose (BNC), Kombucha, Pineapple Waste, Liquid Hestrin-Schramm (HS) medium, Carbon Source.

# PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI LIMBAH NANAS OLEH MIKROBA ISOLAT LOKAL Kc-D-4

**Oleh**

**Nurbaiti**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar**
**SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Kimia**
**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**
**UniversitasLampung**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**
**UNIVERSITAS LAMPUNG**
**BANDAR LAMPUNG**
**2022**

Judul : **PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI LIMBAH NANAS OLEH MIKROBA ISOLAT LOKAL KC-D-4**

Nama Mahasiswa : **Nurbaiti**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1757011012

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**MENYETUJUI**

| Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA | Pembimbing |
|---|---|
| **Dr. Mita Rilyanti, M.Si.** | **Mulyono, Ph.D.** |
| NIP 19720530 200003 2 001 | NIP 19740611 200003 1 002 |

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

Ketua : **Mulyono, Ph.D.** .....

Penguji
Bukan Pembimbing : **Dra. Aspita Laila, M.S.** .....

Penguji
Bukan Pembimbing : **Dr. Eng. Heri Satria, M.Si.** .....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

**Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.**
NIP 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **9 Agustus 2022**

# PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Nurbaiti

NPM : 1757011012

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul "Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) dari Limbah Nanas Oleh Mikroba Isolat Lokal Kc-D-4" ini tidak terdapat karya yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagai mestinya.

Bandar Lampung, 15 Agustus 2022

Yang menyatakan,

Nurbaiti

NPM. 1757011012

# RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Nurbaiti dilahirkan di Lampung Timur, pada tanggal 26 Agustus 1998. Anak kedua dari empat bersaudara, putri dari pasangan Bapak Nurwahid dan Ibu Suyatmi. Penulis mengawali jenjang pendidikan dari Taman Kanak-Kanak Harapan Jaya yang diselesaikan pada tahun 2005. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 1 Sriminosari pada tahun 2011, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 1 Bandar Sribhawono diselesaikan pada tahun 2014, dan melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA YP UNILA diselesaikan pada tahun 2017. Pada tahun 2017, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur SMMPTN Barat (Seleksi Mandiri Masuk Perguruan Tinggi Negeri) yang diselesaikan pada tahun 2022.

Selama di perguruan tinggi, penulis pernah bergabung dalam bidang organisasi kemahasiswaan, sebagai Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (KAMI) periode 2017, dan kemudian menjadi anggota Biro Usaha Mandiri Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) periode 2018 dan 2019. Penulis melaksanakan KKN (Kuliah Kerja Nyata) pada bulan Januari-Februari 2020 di Desa Gedung, Kecamatan Cukuh Balak, Kabupaten Tanggamus. Pada tahun 2022, penulis menyelesaikan PKL (Praktik Kerja Lapangan) di Laboratorium Biokimia, Universitas Lampung dengan judul “Isolasi Bakteri Penghasil *Bacterial Nanocellulose* (BNC) dari Kombucha dan Buah Busuk”. Penulis juga pernah menjadi totur Mata Kuliah Biokimia I untuk mahasiswa S1 Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung pada tahun 2022.

# *M O T T O*

*"Wahai orang-orang yang beriman, mohonlah pertolongan (kepada Allah) dengan sabar dan salat. Sungguh, Allah beserta orang-orang yang sabar"*
***(QS. Al-Baqarah : 153)***

*"Dan bahwa manusia hanya memperoleh apa yang telah diusahakannya"*
***(QS. An-Najm : 39)***

*"Ketahuilah bahwa kemenangan bersama kesabaran, kelapangan bersama kesempitan, dan kesulitan bersama kemudahan"*
***(HR. Tirmidzi)***

*"Keinginan diraih dengan berusaha, berdoa, dan bersyukur yang nantinya akan terwujud atau diganti dengan yang lebih baik"*
***(Penulis)***

*"Pemahaman adalah langkah awal untuk penerimaan, dan hanya dengan penerimaan bisa ada pemulihan"*
***(J.K. Rowling)***

*"Cahaya bintang yang berkelip, lampu gedung yang berkedip, kita bersinar dalam ruang masing-masing di bintang masing-masing. Kita bersinar dengan cara kita sendiri"*
***(Mikromos - BTS)***

بِسْـــــــــــــــمِ اللهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيْمِ

"Dengan menyebut nama Allah yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang"

Dengan segala rasa syukur, kupersembahkan karya ini kepada:

Kedua orangtuaku,

Bapak dan Ibu tercinta yaitu Nurwahid dan Suyatmi yang menghantarkan penulis sampai tahap ini. Terima kasih banyak atas perjuangan, keringat, doa, motivasi, perhatian, dan kasih sayang yang tiada hentinya. Semoga karya kecil ini memberikan sedikit rasa bangga di hati kalian.

Saudaraku,

Kakakku tersayang Nurmita Istiara, S.E., dan Adikku tersayang Veni Octa Violita serta Fahri Wahyu Hidayat yang memberikan semangat, pengertian, dan perhatian kepada penulis.

Dengan rasa hormat,

Bapak Mulyono, Ph.D.,

Ibu Dra. Aspita Laila, M.S., Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., dan Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc. serta para dosen dan guru atas segala bimbingan dan ilmu yang telah diberikan.

Seluruh sahabat dan teman-temanku yang selalu menyemangatiku, berbagi keluh kesah, dan keceriaan kepada penulis.

Almamater yang ku banggakan.

# SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena atas nikmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "**Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) dari Limbah Nanas Oleh Mikroba Isolat Lokal Kc-D-4**" sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains di Universitas Lampung.

Dalam penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan dan rintangan, namun itu semua dapat penulis lalui berkat rahmat dan ridho Allah SWT serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, dengan rasa hormat dan tulus dari hati yang paling dalam, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak dan Ibu dengan penuh cinta dan kasih sayang yang selalu mendoakan, menyemangati, berkorban, memberi kekuatan, nasihat, mendengarkan keluh kesah, serta mendukung keberhasilan yang sangat berharga bagi penulis. Kakak dan Adikku yang selalu memberikan dukungan, bantuan, dan semangat kepada penulis. Semoga Allah senantiasa melindungi, serta memberikan kesehatan, dan rezeki kepada Bapak, Ibu, Kakak dan Adik.
2. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, kesabaran, memberikan ilmu, nasihat, arahan, bantuan, motivasi, dan saran kepada penulis selama penelitian sampai selesainya skripsi ini. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan Bapak.
3. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S. selaku pembahas I yang telah sabar membimbing, mengoreksi, memberikan arahan, dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan Ibu.
4. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku pembahas II yang telah memberikan kemudahan, arahan, masukan, nasihat, dan saran yang membangun dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan Bapak.

5. Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono, M.Sc. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, nasihat, motivasi, dan saran selama perkualiahan kepada penulis. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan Bapak.
6. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si. selaku sekretaris Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T. selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
9. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yang telah mendidik serta memberikan ilmu, saran, dan motivasi kepada penulis selama menjadi mahasiswa.
10. Seluruh karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas waktu serta pelayanan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan.
11. Sepupu dan keluarga besarku baik dari Bapak maupun Ibu. Terima kasih atas doa, dukungan, dan seluruh bantuannya selama ini.
12. Partner penelitianku PMR’17 yaitu Gista Kusuma Rina dan Luthfi Azizah. Terima kasih atas kerja sama, motivasi, kekompakan, dan saling menyemangati dari awal memasuki Laboratorium Biokmia dimasa pandemi, walaupun banyak kesulitan dan rintangan namun tetap berjuang bersama sampai selesainya penelitian ini.
13. Personil Keluarga Ayam, Hidayatil Ardilah, S.Ked. dan Resi Justitia, S.Si. sahabat terdekatku. Terima kasih sudah menjadi tempat berkeluh kesah, memberikan kebahagiaan, semangat, pengertian, saran, serta mendoakan penulis.
14. Personil Donatur, Rusydi Iskandar, S.Si., Arya Sanda, S.Si., dan Ikromudin, S.Si. selalu menemani saya di kampus dimasa *study* yang akan berakhir serta sudah memberikan pengalaman dengan bisnis Strawberry Milk, dan mengajarkan saya banyak hal, mendengarkan keluh kesah, memberikan kebahagian, semangat, pengertian, saran, serta mendoakan penulis.

15. Sahabat-sahabat baikku, Mia Saputri Krisentiana, Innama Trina, Eroh Muhayaroh, Nurul Rosadinah, Najma Firdausi, Firyal Humaira Arif, Naura Tadzkiana Nadiva, Alya Rahmatina Salsabilla, Arifa Rahmatika Salsabilla, Kadek Suprajaya, dan Jeremia yang telah membantu dikala kesusahan dan kebingungan dalam kuliah dan menyelesaikan tugas akhir ini. See You on Top Guys!
16. ”**Kimia Kelas C 2017**” yang telah membersamai dalam proses perkuliahan. Terima kasih atas kerja sama, memberikan semangat, ilmu, bantuan, dan keceriaan kepada penulis. Semoga Allah SWT melancarkan urusan kita semua Aamiin.
17. Teman-teman seperjuangan, Keluarga Besar “**Chemistry 2017”** atas kebersamaannya dari awal pertemuan sebagai mahasiswa sampai sekarang dan bahkan sampai masa depan. Semoga Allah SWT memberkahi dan meridhoi kita selama menjalankan pendidikan di kampus, dan semoga kita dapat mengaplikasikan ilmu yang telah didapat dalam berbagai bidang kehidupan yang akan ditekuni selanjutnya.
18. Teman-teman dan kakak-kakak di Laboratorium Biokimia atas kerja sama, keceriaan, saling menyemangati, dan berbagi keluh kesah selama penelitian berlangsung.
19. Kakak tingkat dan adek tingkat telah menambah pertemanan dan memberikan pengalaman kepada penulis.
20. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang secara tulus memberikan bantuan kepada penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis memohon maaf atas segala kekurangan tersebut dan berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang membaca.

Bandar Lampung, 15 Agustus 2022
Penulis,

Nurbaiti

## DAFTAR ISI

Halaman

**DAFTAR ISI** ..... **i**

**DAFTAR TABEL** ..... **iii**

**DAFTAR GAMBAR** ..... **iv**

**I. PENDAHULUAN** ..... **1**
1.1. Latar Belakang ..... 1
1.2. Tujuan Penelitian ..... 3
1.3. Manfaat Penelitian ..... 3

**II. TINJAUAN PUSTAKA** ..... **4**
2.1. Nanas ..... 4
2.1.1. Pengertian Nanas ..... 4
2.1.2. Karakteristik Nanas ..... 4
2.2. Limbah Nanas ..... 5
2.3. Selulosa ..... 6
2.3.1. Pengertian Selulosa ..... 6
2.3.2. Struktur Selulosa ..... 7
2.4. *Bacterial Nanocellulose* (BNC) ..... 7
2.4.1 Pengertian BNC ..... 7
2.4.2. Struktur BNC ..... 8
2.4.3. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi BNC ..... 8
2.4.4. Aplikasi BNC ..... 10
2.5. Sumber Mikroba Penghasil BNC ..... 11
2.6. Media Seleksi Bakteri Penghasil BNC ..... 12
2.6.1. Medium GEY (Glukosa, Etanol, *Yeast)* ..... 12
2.6.2. Medium Hestrin-Schramm (HS) Cair ..... 12
2.7. Pengukuran *Water Hold Capacity* (WHC) BNC ..... 13
2.8. Karakterisasi BNC ..... 13

**III. METODE PENELITIAN** ..... **15**
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian ..... 15
3.2. Alat dan Bahan ..... 15
3.3. Prosedur Penelitian ..... 15

3.3.1. Tahap Persiapan Alat ..... 15
3.3.2. Tahap Pembuatan Media ..... 16
3.3.3. Isolasi Bakteri Penghasil BNC ..... 17
3.3.4. Produksi BNC ..... 18
3.3.5. Pengukuran *Water Hold Capacity* (WHC) BNC ..... 20
3.3.6. Karakterisasi BNC ..... 20
3.4. Diagram Alir Penelitian ..... 21

**IV. HASIL DAN PEMBAHASAN ..... 22**
4.1. Isolasi Bakteri Penghasil BNC ..... 22
4.2. Produksi BNC ..... 26
4.2.1. Produksi BNC dalam Keadaan Statis ..... 28
4.2.2. Produksi BNC dalam Keadaan agitasi ..... 33
4.3. Pengukuran *Water Hold Capacity* (WHC) BNC ..... 35
4.4. Karakterisasi BNC ..... 37

**V. SIMPULAN DAN SARAN ..... 39**
5.1. Simpulan ..... 39
5.2. Saran ..... 39

**DAFTAR PUSTAKA ..... 40**

**LAMPIRAN ..... 44**

## DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Kandungan asam organik limbah nanas ..... 6

2. Komposisi media produksi BNC menggunakan medium HS cair modifikasi .. 19

3. Variasi medium HS cair dan inokulan pada media adaptasi bakteri penghasil BNC ..... 23

4. Hasil isolasi bakteri penghasil BNC dengan waktu inkubasi selama 7 hari dalam keadaan statis menggunakan medium HS cair dan inokulan ..... 23

5. Variasi sumber karbon pada medium HS cair untuk produksi BNC ..... 27

6. Berat pelikel BNC basah dan kering dari sumber karbon glukosa dan limbah nanas pada medium HS cair oleh isolat Kc-D-4 dalam keadaan statis dengan waktu inkubasi 7 hari ..... 29

7. Berat pelikel BNC basah dan kering dari sumber karbon glukosa dan limbah nanas pada medium HS cair oleh isolat Kc-D-4 dalam keadaan statis dengan waktu inkubasi 14 hari ..... 30

8. Berat pelikel BNC basah dan kering dari sumber karbon glukosa dan limbah nanas pada medium HS cair oleh isolat Kc-D-4 dalam keadaan statis dengan waktu inkubasi 21 hari ..... 31

9. Pengukuran WHC pelikel BNC dalam keadaan statis dengan sumber karbon glukosa dan limbah nanas pada medium HS cair ..... 36

## DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Varietas nanas A). *Smooth cayenne*, B). *Queen*, C). *Red spanish*, D). *Green spanish* ..... 5

2. Struktur selulosa ..... 7

3. Diagram alir penelitian..... 21

4. Hasil isolasi bakteri penghasil BNC A). Medium HS-A, B). Medium HS-B, dan C). Medium HS-C ..... 23

5. Hasil spread plate isolat Kc-D-4 dengan waktu inkubasi 48 jam..... 24

6. Hasil streak plate dari koloni Kc-D-4 dengan waktu inkubasi 48 jam ..... 25

7. Hasil seleksi dengan medium GEY dengan waktu inkubasi 48 jam ..... 26

8. Hasil produksi BNC pada keadaan statis dengan waktu inkubasi selama 7 hari A). Medium HS (kontrol), B). Medium HS-A1 (konsentrasi limbah nanas 2%), C). Medium HS-A2 (4%), D). Medium HS-A3 (6%), dan E). Medium HS-A4 (8%). ..... 28

9. Hasil produksi BNC pada keadaan statis dengan waktu inkubasi selama 14 hari A). Medium HS (kontrol), B). Medium HS-A1 (konsentrasi limbah nanas 2%), C). Medium HS-A2 (4%), D). Medium HS-A3 (6%), dan E). Medium HS-A4 (8%)..... 29

10. Hasil produksi BNC pada keadaan statis dengan waktu inkubasi selama 21 hari A). Medium HS (kontrol), B). Medium HS-A1 (konsentrasi limbah nanas 2%), C). Medium HS-A2 (4%), D). Medium HS-A3 (6%), dan E). Medium HS-A4 (8%)..... 30

11. Pengaruh waktu inkubasi terhadap berat pelikel BNC pada medium HS-A4 (sumber karbon limbah nanas konsentrasi 8%) dalam keadaan statis ..... 32

12. Hasil produksi BNC pada keadaan agitasi dengan waktu inkubasi selama 7 hari A). Medium HS (kontrol), B). Medium HS-A1 (konsentrasi limbah nanas

2%), C). Medium HS-A2 (4%), D). Medium HS-A3 (6%), dan E). Medium HS-A4 ( 8%)..... 34

13. Hasil produksi BNC pada keadaan agitasi dengan waktu inkubasi selama 14 hari A). Medium HS (kontrol), B). Medium HS-A1 (konsentrasi limbah nanas 2%), C). Medium HS-A2 (4%), D). Medium HS-A3 (6%), dan E). Medium HS-A4 (8%)..... 34

14. Contoh pelikel BNC A). Basah dan B). Kering ..... 35

15. Morfologi pelikel BNC dengan sumber karbon limbah nanas pada medium HS cair A). Perbesaran 30.00 K X, B). Perbesaran 20.00 K X, C). Morfologi pelikel BNC dengan sumber karbon glukosa pada medium HS cair..... 38

# I. PENDAHULUAN

## 1.1. Latar Belakang

Selulosa merupakan salah satu polimer yang paling melimpah di alam yang tersusun atas monomer-monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β-1,4 glikosidik dan umumnya diproduksi oleh tumbuhan, namun bakteri juga dapat memproduksi selulosa yang secara struktural menyerupai selulosa tumbuhan melalui fermentasi. Selulosa jenis ini disebut selulosa bakterial atau selulosa mikroba yang dapat dikelompokan sebagai nanomaterial selulosa atau dikenal sebagai *bacterial nanocellulose* (BNC). BNC merupakan selulosa yang dihasilkan oleh beberapa genus bakteri seperti *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Aerobacter*, *Azotobacter*, *Salmonella*, *Escherichia*, dan *Sarcina* (Park *et al*., 2019).

BNC dapat diproduksi oleh strain *Acetobacter xylinum* yang merupakan genus *Acetobacter*, yang biasanya ditemukan pada buah-buahan dan sayuran yang membusuk, makanan fermentasi, dan minuman fermentasi seperti kombucha. Produksi BNC dapat dilakukan dengan memperoleh isolat potensial dari kultur kombucha (Nurika dkk., 2007). Kultur kombucha mengandung berbagai macam bakteri salah satunya yaitu *Acetobacter xylinum* (Azizah dkk., 2016). Bakteri dari genus *Acetobacter* dapat mengubah etanol menjadi asam asetat melalui proses oksidasi (Rangaswamy *et al*., 2015). Mikroorganisme yang mengoksidasi etanol menjadi asam asetat biasa disebut bakteri asam asetat.

BNC yang diproduksi oleh kelompok bakteri asam asetat memiliki sifat yang unik seperti kemurnian tinggi, kristalinitas tinggi, kapasitas menyerap air yang tinggi, *biodegradable*, struktur jaringan *nanofibrous*, dan biokompatibilitas yang baik

(Suryantoro, 2017). Berdasarkan sifat tersebut BNC dapat diaplikasikan secara luas di berbagai bidang. BNC dalam bidang medis digunakan sebagai pembalut luka, bahan untuk rekayasa jaringan dan perbaikan jaringan, digunakan dalam bedah rekonstruktif, digunakan sebagai jaringan pembawa obat (Wee *et al*., 2011), dan bahan alternatif dalam pembuatan cangkang kapsul (Boby dkk., 2021). BNC dalam bidang industri makanan digunakan sebagai pengental dan *texturizer*. Selain itu juga digunakan sebagai bahan untuk diafragma speaker berkinerja tinggi, kosmetik, pembuatan kertas, pengental cat, dan tekstil.

Produksi BNC selain dipengaruhi oleh kemampuan strain bakteri dalam menghasilkan BNC, juga dipengaruhi oleh media fermentasi. Dalam memilih media fermentasi selain memperhatikan nutrisi yang terkandung di dalamnya juga harus memperhatikan biaya media fermentasi, terutama media yang murah dan tersedia secara terus menurus. Penggunaan glukosa pada medium Hestrin-Schramm (HS) sebagai sumber karbon saat ini menjadi kurang efisien, karena tingginya biaya media fermentasi. Oleh karena itu, penggunaan bahan lain sebagai sumber karbon alternatif dalam produksi BNC harus senantiasa dilakukan. Salah satu limbah yang dapat digunakan sebagai sumber karbon alternatif adalah limbah nanas.

Limbah buah nanas terdiri dari: kulit, mata, dan hati nanas. Limbah nanas mengandung air 81,72%, karbohidrat 17,53%, protein 4,41%, dan serat kasar 20,87%. Nanas mempunyai pH berkisar antara 2-4 dan mengandung bromelin serta protease, sehingga apabila limbah ini dibuang begitu saja akan menyebabkan kerusakan tanah dan penurunan kesuburan tanah. Kandungan pH tinggi disebabkan oleh tingginya asam organik dalam nanas (Susanto dan Suarsini, 2011). Limbah nanas sampai saat ini tidak dimanfaatkan dengan baik, sehingga menyebabkan terjadinya pencemaran lingkungan. Salah satu alternatif pemanfaatan dari limbah nanas yaitu dapat digunakan sebagai sumber karbon alami dalam memproduksi BNC dengan bantuan bakteri melalui proses fermentasi. Salah satu sumber nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan BNC adalah karbohidrat. Karbohidrat merupakan sumber karbon yang berfungsi

sebagai penghasil energi bagi bakteri, sedangkan nutrisi lain seperti protein dibutuhkan dalam jumlah lebih sedikit daripada karbohidrat (Kusuma dkk., 2019).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Umami (2016) menunjukkan bahwa sumber karbon optimum dalam menghasilkan produktivitas BNC sebesar 4,41% oleh strain *Acetobacter lovaniensis* (MGA 6) adalah limbah buah nanas diantara sumber karbon lainnya (pepaya, mangga, dan jeruk) pada keadaan statis. Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan produksi BNC dengan menggunakan limbah nanas sebagai sumber karbon alami yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri penghasil BNC.

## 1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memperoleh isolat bakteri penghasil BNC dari kombucha.
2. Memperoleh kondisi optimum produksi BNC menggunakan sumber karbon alami limbah nanas dengan variasi konsentrasi oleh mikroba isolat lokal Kc-D-4.

## 1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah agar dapat memberikan informasi mengenai pemanfaatan limbah nanas yang digunakan sebagai sumber karbon pada media produksi BNC oleh mikroba isolat lokal Kc-D-4.

# II. TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1. Nanas

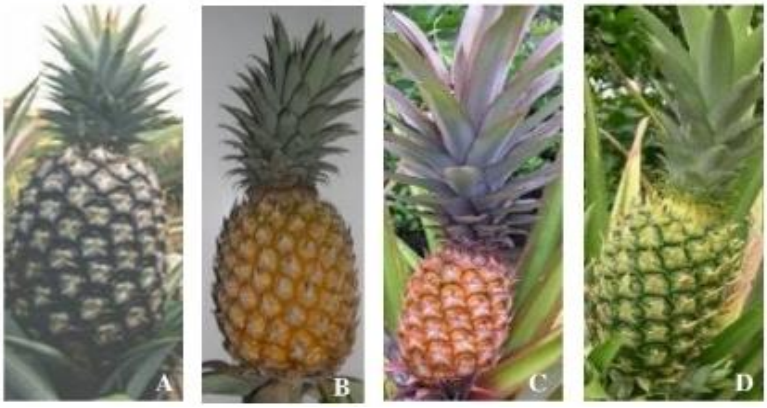
### 2.1.1. Pengertian Nanas

Nanas merupakan tumbuhan tropis berasal dari Brasil, Bolivia, dan Paraguay. Buah nanas berbentuk bulat panjang, berdaging, dan berwarna hijau, jika masak warnanya menjadi kuning, rasanya asam sampai manis. Nanas dikenal sebagai tanaman herbal yang dapat hidup dalam berbagai musim. Tanaman ini digolongkan dalam kelas monokotil yang bersifat tahunan yang mempunyai rangkaian bunga yang terdapat di ujung batang, tumbuhnya meluas dengan menggunakan tunas samping yang berkembang menjadi cabang-cabang vegetatif, pada cabang tersebut kelak dihasilkan buah (Stefani dan Nur, 2018).

### 2.1.2. Karakteristik Nanas

Varietas nanas yang dibudidayakan di Indonesia terdapat beberapa jenis anatara lain, *smooth cayenne*, *queen*, dan *spanish*. Pada jenis Spanish terdapat dua macam yaitu *red spanish* dan *green spanish*. Varietas nanas yang dibudidayakan secara luas oleh petani yaitu varietas nanas *smooth cayenne* dan *queen. Smooth cayenne* biasanya digunakan sebagai buah nanas koktail. Nanas jenis ini memiliki tepi daun yang tidak berduri atau duri hanya terletak dibagian ujung daun, daging buah berwarna pucat, dan mengandung banyak air. Nanas jenis *Queen* banyak dikonsumsi dalam bentuk buah segar, yang dicirikan dengan tepi daun yang berduri, buah berukuran kecil, daging buah berwarna kuning keemasan serta tidak transparan. Sedangkan nanas jenis *spanish* mempunyai ciri-ciri seperti, daun berduri dengan warna merah atau hijau, daging buah mengandung banyak air, berserat, dan transparan, serta rasa kurang manais dibandingkan dengan *smooth*

*cayenne* dan *queen* (Hadiati dan Indriyani, 2008). Varietas nanas yang dibudidayakan di Indonesia dapat dilihat pada Gambar 1.




**Gambar 1**. Varietas nanas A). *Smooth cayenne*, B). *Queen*, C). *Red spanish*, D). *Green spanish* (Sumber: Hadiati dan Indriyani, 2008).

## 2.2. Limbah Nanas

Nanas adalah salah satu buah yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat, akan tetapi hanya bagian daging buahnya saja yang dimanfaatkan, sedangkan bagian hati dan kulitnya hanya menjadi limbah buangan saja. Limbah nanas ini termasuk limbah organik yang masih mengandung banyak nutrisi yang dapat dimanfaatkan apabila dibiarkan begitu saja tanpa penanganan yang tepat akan mencemari lingkungan. Limbah nanas mengandung air 81,72%, karbohidrat 17,53%, protein 4,41%, dan serat kasar 20,87%. Kandungan karbohidrat yang tinggi dapat digunakan sebagai sumber karbon bagi pertumbuhan suatu mikroorganisme dalam menghasilkan suatu lapisan putih yang ada dipermukaan media yang dikenal sebagai pelikel. Bahan organik yang terdapat pada limbah nanas diduga merupakan nutrisi yang potensial untuk diuji sebagai media dasar untuk memproduksi BNC, sekaligus menjadi solusi atas permasalahan lingkungan yang ditimbulkannya.

Nanas mempunyai pH berkisar antara 2-4 dan mengandung bromelin dan protease, sehingga apabila limbah ini dibuang begitu saja akan menyebabkan kerusakan tanah dan penurunan kesuburan tanah. Kandungan pH tinggi

disebabkan oleh tingginya asam organik dalam nanas (Susanto dan Suarsini, 2011). Kandungan asam organik limbah nanas dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Kandungan asam organik limbah nanas

| Asam Organik | Satuan (ppm) |
|---|---|
| Asam Sitrat | 400 |
| Asam Suksinat | 161 |
| Asam Fosfat | 23,0 |
| Asam Oksalat | 13,8 |
| Asam Glutamat | 13,0 |
| Asam Laktat | 9,00 |
| Asam Sulfat | 4,40 |
| Asam Isoklinat | 4,00 |
| Asam Format | 3,00 |
| Asam Malonat | 3,00 |
| Asam klorida | 2,00 |
| Asam Propionat | 1,90 |
| Asam Asetat | 0,50 |
| Asam Nitrat | 0,10 |

Sumber: Susanto dan Suarsini, (2011)

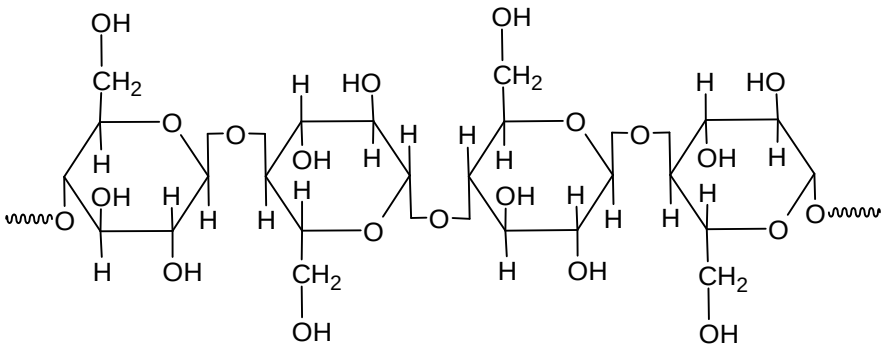
## 2.3. Selulosa

### 2.3.1. Pengertian Selulosa

Selulosa merupakan biopolimer alami yang paling melimpah, biokompatibel, dan ramah lingkungan karena mudah terdegradasi, tidak beracun, serta dapat diperbarui (Mulyadi, 2019). Selulosa tersusun dari monomer-monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4 glikosidik. (Park *et al.*, 2019). Ukuran molekul selulosa dinyatakan dengan derajat polimerisasi, yang merupakan ukuran dalam jumlah unit anhidroglukosa per rantai selulosa. Selulosa umumnya disintesis oleh organisme hidup mulai dari tumbuhan tingkat rendah sampai tumbuhan tingkat tinggi, hewan laut, bakteri, dan jamur. Selulosa yang disintesis oleh bakteri dikenal sebagai selulosa bakterial, dimana bakteri yang mensintesis yaitu *Acetobacter xylinum* (Trache *et al.*, 2016).

### 2.3.2. Struktur Selulosa

Selulosa memiliki rumus molekul $(C_6H_{10}O_5)n$ dimana n merupakan derajat polimerisasi (DP) dari selulosa. Selulosa termasuk polimer hidrofilik dengan tiga gugus hidroksil reaktif tiap unit hidroglukosa, tersusun atas ribuan gugus anhidroglukosa yang tersambung melalui ikatan β-1,4 glikosidik membentuk molekul berantai yang panjang dan linier. Gugus hidroksil pada C2 dan C3 adalah gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon sekunder, sedangkan gugus hidroksil pada C6 terikat pada atom karbon primer (Mulyadi, 2019). Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2**. Struktur selulosa (Sumber: Mulyadi, 2019).

## 2.4. *Bacterial Nanocellulose* (BNC)

### 2.4.1 Pengertian BNC

BNC merupakan biopolimer alami (Sharma *and* Bhardwaj, 2019) yang dapat dikategorikan sebagai nanomaterial selulosa (Park *et al*., 2019) yang diproduksi oleh berbagai spesies bakteri, seperti *Gluconacetobacter, Acetobacter xylinum, Acanthamoeba, Achromobacter, Aerobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Azotobacter, Escherichia, Pseudomonas, Rhizobium, Salmonella, Sarcina,* dan *Zooglea* dalam proses fermentasi cuka atau pembusukan buah. Bakteri penghasil BNC umumnya adalah *Acetobacter xylinum* yang merupakan bakteri gram negatif yang bersifat aerob, bakteri non patogen yang berbentuk batang (Skocaj, 2019). BNC yang dihasilkan memiliki kemurnian tinggi, kristalinitas tinggi, kapasitas

menyerap air yang tinggi, *biodegradable*, struktur jaringan *nanofibrous*, dan biokompatibilitas yang baik (Suryantoro, 2017).

### 2.4.2. Struktur BNC

BNC memiliki struktur dan karakteristik yang berbeda dibandingkan dengan selulosa dari tanaman. Struktur BNC berbentuk pita-pita berukuran nano dengan panjang kurang dari 100 nm dan lebar 2-4 nm. Produksi nanofibril selulosa dari selulosa bakterial tidak memerlukan proses penghilangan hemiselulosa dan lignin seperti pada selulosa dari tanaman. BNC memiliki kapasitas menyimpan air, derajat polimerisasi, dan struktur jaringan yang lebih baik daripada selulosa dari tanaman. BNC menjadi salah satu bahan baku nano komposit yang menjanjikan, karena lebih kuat daripada selulosa yang berasal dari tanaman (Wibowo dan Isroi, 2015).

### 2.4.3. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi BNC

Pertumbuhan BNC dipengaruhi oleh beberapa faktor meliputi media pertumbuhan dan kondisi lingkungan.

#### 2.4.3.1. Pengaruh Media Pertumbuhan

Untuk mencapai produksi BNC yang tinggi, kondisi kultur memiliki pengaruh besar, terutama sumber karbon, sumber nitrogen, temperatur dan pH (Ramana *et al*., 2000).

a. Pengaruh sumber karbon

Sumber karbon merupakan salah sumber yang digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan bakteri penghasil BNC. Pembentukan BNC dapat terjadi pada media produksi yang mengandung senyawa-senyawa seperti glukosa, fruktosa, sukrosa, maltosa, dan laktosa (Zahan *et al*., 2014). BNC dapat diproduksi dengan membiakkan strain *Acetobacter xylinum* yang merupakan genus *Acetobacter*, dimana dalam media produksinya memerlukan glukosa yang digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan dan selebihnya diubah menjadi BNC. Pada proses

produksi, bakteri *Acetobacter xylinum* menghasilkan enzim ekstraseluler polimerase yang dapat menyusun (mempolimerisasi) glukosa menjadi ribuan rantai (homopolimer) serat atau selulosa. Dari jutaan bakteri yang tumbuh dalam media, akan dihasilkan jutaan lembar benang-benang selulosa yang akhirnya nampak padat berwarna putih hingga transparan yang disebut sebagai pelikel BNC. *Acetobacter xylinum* mengambil glukosa, kemudian digabungkan dengan asam lemak membentuk prekursor pada membran sel. Prekursor dari polisakarida ini keluar bersama dengan enzim yang mempolimerisasikan glukosa menjadi selulosa diluar sel (Wibowo dan Isroi, 2015).

Sumber karbon yang terdapat dalam media produksi dapat diukur kadar konsentrasinya menggunakan alat refraktometer. Refraktometer merupakan alat yang digunakan untuk mengukur besarnya konsentrasi larutan gula yang terkandung di dalam suatu larutan. Satuan skala pembacaan refraktometer adalah %brix. Brix adalah zat padat kering yang terlarut dalam suatu larutan yang dihitung sebagai gula. Brix juga dapat didefinisikan sebagai prosentase massa gula yang terkandung di dalam massa larutan gula. Sedangkan massa larutan gula adalah massa gula yang ditambah dengan massa pelarutnya (Purmitasari dan Hidayanto, 2013).

b. Pengaruh sumber nitrogen

Nitrogen adalah komponen utama dari protein yang jumlahnya sekitar 8-14 % dari berat kering sel. Sumber nitrogen yag digunakan yaitu pepton, ammonium nitrat, ammonium sulfat, ammonium klorida dan *yeast extract* (Rangaswamy *et al*., 2015). Sumber nitrogen digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan bakteri penghasil BNC.

#### 2.4.3.2. Kondisi Lingkungan

a. Derajat keasaman

pH optimum media kultur untuk produksi BNC berkisar pada rentang pH antara 4.0 – 6.0, produksi BNC menurun jika pH dibawah 4. Penurunan pH selama fermentasi terjadi karena adanya akumulasi asam glukonat atau asam laktat

didalam cairan kultur. Pengontrolan pH sangat penting terutama pada kondisi kultur statis. Penelitian telah menunjukkan bahwa produksi asam glukonat dapat dikurangi dengan adanya lignosulfonat (Park *et al*., 2003).

b. Suhu

Temperatur merupakan pengaruh utama pada struktur kristal dan morfologi dari BNC yang diproduksi (Rangaswamy *et al*., 2015). Suhu optimum produksi BNC yaitu 20$^{o}$C – 40$^{o}$C.

c. Oksigen

Oksigen di dalam media kultur merupakan faktor penting yang berpengaruh terhadap produksi BNC. BNC dapat diproduksi dengan membiakkan strain *Acetobacter xylinum* yang merupakan genus *Acetobacter*. *Acetobacter xylinum* merupakan bakteri gram negatif yang bersifat aerob, yang dalam pertumbuhan, perkembangan, dan aktivitasnya memerlukan oksigen untuk membentuk BNC. Apabila kekurangan oksigen, bakteri ini akan mengalami gangguan atau hambatan dalam pertumbuhannya dan bahkan dapat mengalami kematian. Oleh sebab itu, wadah atau fermentor yang digunakan untuk fermentasi nanasoselulosa bakterial, tidak boleh ditutup rapat.

### 2.4.4. Aplikasi BNC

BNC memiliki berbagai macam aplikasi yang potensial karena sifat unik yang dimilikinya, sehingga dapat diaplikasikan dalam bidang makanan, bidang medis, produk komersial dan industri

a. Bidang Makanan

Dalam bidang makanan BNC digunakan sebagai bahan baku pembuatan *nata de coco*, sebagai pengental, dan *texturizer* (Park *et al*., 2019).

b. Bidang Kesehatan dan Farmasi

Dalam bidang biomedis BNC digunakan untuk bahan pembalut luka (Hong *et al*., 2015), bahan untuk rekayasa sel dan perbaikan jaringan, digunakan dalam bedah

rekonstruktif, digunakan dalam jaringan pembawa obat (Wee *et al*., 2011), manufaktur pembuluh darah buatan (Hussain *et al*., 2019).

c. Produk-Produk Komersial

Dalam industri komersial BNC digunakan sebagai emulsifier dalam industri kosmetik dan juga digunakan sebagai bahan baku pembuatan kertas berkualitas, membran filtrasi ultra dan audio speaker diagram (Chawla *et al*., 2009).

## 2.5. Sumber Mikroba Penghasil BNC

BNC dapat dihasilkan oleh beberapa genus bakteri seperti *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Aerobacter*, *Azotobacter*, *Salmonella*, *Escherichia*, dan *Sarcina* (Park *et al*., 2019) yang biasanya ditemukan pada buah-buahan dan sayuran yang membusuk, makanan fermentasi, dan minuman fermentasi seperti kombucha.

Kombucha merupakan minuman teh fermentasi yang mengandung gula yang telah difermentasi oleh bakteri dan disebut juga sebagai kultur kombucha (Nurika dkk., 2007). Kultur kombucha terbagi menjadi dua bagian yaitu bentuk cairan dan biofilm yang melayang di dalamnya. Cairan yang terbentuk setelah fermentasi dapat dikonsumsi dan dapat pula dijadikan sebagai starter untuk fermentasi selanjutnya. Mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi teh kombucha yaitu bakteri *Acetobacter xylinum*. Kombucha memiliki khasiat yang sangat berguna bagi tubuh manusia. Beberapa manfaat dari kombucha antara lain sebagai antioksidan, antibakteri, memperbaiki mikroflora usus, meningkatkan ketahanan tubuh dan menurunkan tekanan darah. Khasiat tersebut dikarenakan adanya kandungan senyawa fenolik yang memiliki aktivitas antioksidan. Semakin tinggi senyawa fenolik yang terkandung, maka semakin tinggi pula aktivitas antioksidannya (Khaerah dan Akbar, 2019).

## 2.6. Media Seleksi Bakteri Penghasil BNC

### 2.6.1. Medium GEY (Glukosa, Etanol, *Yeast)*

GEY (Glukosa, Etanol, *Yeast*) merupakan media selektif yang digunakan untuk menseleksi bakteri penghasil BNC. Pada tahap seleksi didapatkan koloni bakteri yang menghasilkan zona bening di sekeliling koloni. Isolat bakteri yang positif menghasilkan BNC ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni. Zona bening yang terbentuk diamati dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong (Singh *et al*., 2017). Rumus untuk meghitung indeks halo adalah:

$$\text{Indeks Halo} = \frac{\text{Z}}{\text{K}} = \frac{\text{Diameter zona bening}}{\text{Diameter koloni}}$$

Zona bening yang dihasilkan bakteri yang berhasil diisolasi memiliki ukuran zona bening yang berbeda-beda. Adanya perbedaan ukuran zona bening yang berbeda-beda yang dihasilkan oleh masing-masing isolat menunjukkan adanya keberagaman spesies bakteri yang telah diisolasi. Zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa sumber karbon dan sumber nitrogen yang terdapat pada medium GEY telah dimanfaatkan oleh bakteri penghasil BNC (Rahma dan Zul, 2020). Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji yang dinyatakan dengan diameter zona hambat (Rastina dkk., 2015).

### 2.6.2. Medium Hestrin-Schramm (HS) Cair

Medium HS cair mengandung sumber karbon seperti glukosa dan sumber nitrogen seperti pepton dan *yeast extract* yang diperlukan bakteri dalam menghasilkan BNC. Medium HS cair merupakan media yang digunakan untuk menguji produktivitas isolat bakteri dalam memproduksi BNC (Sarkono dkk., 2017). Bakteri penghasil BNC yang tumbuh dalam medium HS cair, akan menghasilkan benang-benang yang mengapung dan nampak padat berwarna putih hingga transparan di atas permukaan media cair yang disebut sebagai pelikel BNC (Herwin dkk., 2020)

## 2.7. Pengukuran *Water Hold Capacity* (WHC) BNC

*Water hold capacity* merupakan kapasitas menahan air atau menyerap air, dimana pengukuran WHC pada pelikel BNC ini bertujuan untuk mengukur daya serapnya terhadap air. BNC memiliki sifat kapasitas menyerap air yang tinggi (Suryantoro, 2017), sehingga dapat diaplikasikan dalam bidang biomedis seperti pembalut luka dan rekayasa jaringan (Abol-Fotouh *et al*., 2020). Pengukuran WHC pelikel BNC dilakukan dengan cara menghitung persentase menggunakan rumus WHC dengan menggunakan berat pelikel basah dan berat pelikel kering yang dihasilkan pada produksi BNC. Rumus untuk menghitung WHC adalah:

$$\text{WHC (\% )} = \frac{\text{berat basah} - \text{berat kering}}{\text{berat basah}} \times 100\%$$

(Yanti dkk., 2020)

Menurut Boby dkk., (2021) pelikel BNC yang berkualitas baik mengandung WHC lebih dari 85%. WHC yang tinggi mengakibatkan pelikel BNC mempunyai tekstur yang kenyal. Tingginya WHC pada pelikel BNC disebabkan oleh adanya gugus hidroksil, sehingga dapat mengikat gugus hidrogen pada air. Pelikel BNC yang mengandung WHC tinggi dapat diaplikasikan untuk balutan luka karena membran tersebut dapat mengatur kelembapan area luka. Area luka yang lembab dapat mempercepat proses penyembuhan dibandingkan dalam kondisi kering disamping itu dapat mempermudah proses mengganti balutan tanpa menimbulkan rasa sakit pada kulit.

## 2.8. Karakterisasi BNC

Karakterisasi BNC dilakukan dengan menggunakan alat instrument SEM (*Scanning Electron Microscopy*). SEM adalah salah satu jenis mikroskop elektron yang digunakan untuk mengetahui permukaan dari objek solid secara langsung dengan memindainya menggunakan sinar elektron berenergi tinggi (Okky dan Bayuseno, 2014). SEM memiliki perbesaran 10 – 3000000x, *depth of field* 4 – 0.4 mm, dan resolusi sebesar 1 – 10 nm. Kombinasi dari perbesaran yang tinggi, *depth of field* yang besar, resolusi yang baik, kemampuan untuk mengetahui

komposisi dan informasi kristalografi membuat SEM banyak digunakan untuk keperluan penelitian dan industri. Adapun fungsi utama dari SEM antara lain dapat digunakan untuk mengetahui informasi mengenai topografi, morfologi, dan informasi kristalografi.

Prinsip kerja SEM adalah menembakkan permukaan sampel dengan berkas elektron berenergi tinggi. Berkas elektron berenergi tinggi yang mengenai permukaan sampel akan memantulkan kembali berkas tersebut atau menghasilkan elektron sekunder ke segala arah. Tetapi ada satu arah dimana berkas dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Detektor di dalam SEM mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. Arah tersebut memberi informasi profil permukaan sampel seperti seberapa landai dan kemana arah kemiringan. Pada saat dilakukan pengamatan, lokasi permukaan sampel yang ditembak dengan berkas elektron discan ke seluruh area daerah pengamatan (Abdullah dan Khairurrijal, 2009).

# III. METODE PENELITIAN

## 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2021 – April 2022 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi BNC dilakukan di Unit Pelaksanaan Teknis (UPT) Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung.

## 3.2. Alat dan Bahan

Alat–alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, Erlenmeyer, gelas beaker, pipet tetes, corong pisah, gelas ukur, bunsen, spatula, oven, *Laminar Air Flow* (LAF), *Scanning Electron Microscope* (SEM), *shaker*, refraktometer (0-32%), mikropipet, cawan petri, *autoclave*, neraca digital, jarum ose, inkubator, rak tabung reaksi, dan *hot plate*.

Bahan–bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombucha, glukosa, pepton, *yeast extract agar*, *yeast extract powder*, $Na_2HPO_4$, kasa, kapas, kertas saring, asam sitrat, NaOH, akuades, agar *powder*, etanol 70%, NaCl, $CaCO_3$, dan limbah nanas.

## 3.3. Prosedur Penelitian

### 3.3.1. Tahap Persiapan Alat

Alat-alat gelas yang digunakan dicuci, dikeringkan, dibungkus menggunakan kertas lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121ºC dan tekanan 1 atm. Kemudian alat-alat gelas tersebut dikeringkan

menggunakan oven dengan suhu 100$^{o}$C selama 15 menit. Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan mikroba yang tidak diinginkan.

### 3.3.2. Tahap Pembuatan Media

Isolat bakteri penghasil BNC ditumbuhkan di medium standar Hestrin-Schramm (HS). Untuk media agar miring menggunakan HS agar, sedangkan untuk media starter dan media fermentasi menggunakan HS cair. Pada penelitian ini digunakan variasi media pertumbuhan isolat.

Adapun komposisi dan cara pembuatan sebagai berikut:

**a. Medium Hestrin-Schramm Agar**

Pembuatan medium HS agar terdiri dari 2 g glukosa, 0,5 g pepton, 0,5 g *yeast extract agar*, 0,27 g $Na_2HPO_4$, 0,12 g asam sitrat dan 1,5 g agar *powder* ditimbang dilarutkan dalam 100 mL aquades. Medum lalu dipanaskan hingga bahan larut dan pH medium dibuat menjadi 6. Medium lalu disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121ºC dan tekanan 1 atm.

**b. Medium Hestrin-Schramm Cair**

Pembuatan medium HS cair terdiri dari 2 g glukosa , 0,5 g pepton, 0,5 g *yeast extract powder*, 0,27 g $Na_2HPO_4$, dan 0,12 g asam sitrat, dilarutkan dalam 100 mL aquades. Medium lalu dipanaskan hingga bahan larut dan pH medium dibuat 6. Kemudian medium disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121ºC dan tekanan 1 atm.

**c. Medium *Glucose, Ethanol, Yeast* (GEY)**

Pembuatan medium GEY terdiri dari 2 g glukosa, 1 g *yeast extract agar*, 2 g agar *powder*, dan 0,3 g $CaCO_3$, dilarutkan dalam 100 mL aquades dan dipanaskan hingga larut. Kemudian medium disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit pada suhu 121ºC dan tekanan 1 atm. Selanjutnya dimasukan ke dalam LAF dan setelah dingin ditambahkan 5 mL etanol.

### 3.3.3. Isolasi Bakteri Penghasil BNC

Sampel kombucha yang digunakan diukur kadar brixnya menggunakan alat refraktometer (0-32%), hal ini bertujuan untuk mengetahui kadar gula (%brix) yang terdapat pada media kombucha (Purmitasari dan Hidayanto, 2013). Kombucha merupakan minuman teh fermentasi yang mengandung gula yang telah difermentasi oleh bakteri dan disebut juga sebagai kultur kombucha (Nurika dkk., 2007). Kultur kombucha terbagi menjadi dua bagian yaitu bentuk cairan dan biofilm yang melayang di atas permukaan. Cairan yang terbentuk setelah fermentasi dapat dikonsumsi dan dapat pula dijadikan sebagai starter untuk fermentasi selanjutnya yang disebut sebagai inokulan.

Siapkan 3 buah Erlenmeyer yang berisi medium HS cair sebanyak 35 mL, 40 mL, dan 45 mL yang diberi nama medium HS-A, HS-B, dan HS-C. Kemudian ditambahkan inokulan sebanyak 15 mL pada medium HS-A, 10 mL pada medium HS-B, dan 5 mL pada medium HS-C. Selanjutnya diukur kadar brix pada masing-masing media menggunakan alat refraktometer (0-32%) dan diinkubasi secara statis pada suhu 30°C selama 7 hari. Pengukuran kadar brix pada media bertujuan untuk mengetahui apakah media adaptasi yang dibuat dengan menggunakan medium HS cair yang ditambahkan inokulan sudah memiliki kadar gula yang cukup untuk dimanfaatkan oleh bakteri yang terdapat pada kombucha.

Setelah diinkubasi selama 7 hari, ketiga media tersebut akan dibandingkan dan dipilih yang menghasilkan pelikel dengan berat terbesar selanjutnya akan diuji lebih lanjut. Sebanyak 1 gram dari pelikel yang terpilih dihaluskan menggunakan mortar dan alu, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi larutan salin (NaCl 0.96%) steril, kemudian diambil sebanyak 1 mL dan disuspensikan ke dalam 9 mL air salin (pengenceran $10^{-1}$). Suspensi diencerkan sampai enam kali pengenceran ($10^{-6}$). Tujuan dilakukan pengenceran sampai enam kali yaitu untuk memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Pada pengenceran $10^{-6}$ diambil sebanyak 100 µL dan dilakukan dengan metode *spread plate* (sebar) pada medium HS agar dan diinkubasi pada suhu 30ºC selama 48 jam.

Isolat yang tumbuh dari metode *spread plate* (cawan sebar), diseleksi lebih lanjut untuk memperoleh isolat-isolat yang mampu menghasilkan BNC. Isolat tersebut diambil secara aseptis menggunakan jarum ose dan totolkan pada medium GEY lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30ºC hingga terbantuk zona bening disekitar koloni. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur diameter koloni dan diameter zona bening di sekitar koloni dan dicatat, untuk dihitung nilai indeks halonya. Koloni yang memiliki nilai indeks halo terbaik, selanjutnya dimurnikan dengan metode *streak plate*.

Koloni yang diperoleh dari hasil seleksi medium GEY dimurnikan dengan metode *streak plate* empat kuadran. *Streak plate* empat kuadran dilakukan dengan cara, cawan petri yang berisi medium HS agar dibuat pembagian 4 sektor kuadran agar mempermudahkan terlihatnya pertumbuhan bakteri dari kuadran I sampai kuadran 4 mana yang lebih banyak ditumbuhi oleh mikroba. Kemudian diambil 1 ose koloni dari hasil uji medium GEY secara aseptis. Lalu goreskan di permukaan medium HS agar kuadran 1 secara zig-zag. Buat goresan lagi dipermukaan agar dari kuadran 1 ke kuadran 2, dari kuadran 2 ke kuadranr 3, dari kuadran 3 ke kuadran 4 dengan tidak memutus garis zig-zag. *Streak plate* dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan untuk memperoleh isolat yang lebih murni atau berupa koloni tunggal. Setelah dilakukan permurnian, selanjutnya dilakukan penotolan kembali pada medium GEY yang bertujuan untuk memperoleh koloni yang lebih murni (koloni tunggal). Hasil positif menunjukkan terbentuknya zona bening disekitar koloni. Zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa bakteri penghasil BNC telah memanfaatkan sumber karbon dan sumber nitrogen yang terdapat di dalam medium GEY (Rahma dan Zul, 2020). Koloni tunggal yang telah diperoleh lalu ditumbuhkan pada medium HS agar miring untuk dijadikan stok kultur (Rangaswamy *et al.*, 2015).

### 3.3.4. Produksi BNC

Sebelum produksi BNC, terlebih dahulu dilakukan pembuatan inokulum kemudian dilanjutkan dengan proses fermentasi BNC. Sebanyak 2 ose dari stok kultur, diinokulasikan ke dalam 25 mL medium HS cair. Lalu diinkubasi pada

suhu 30ºC selama *overnight* (16 – 20 jam) dalam keadaan agitasi (*shaking*) dengan kecepatan 150 rpm. Inokulum yang telah diinkubasi selama *overnight* diambil sebanyak 5% (v/v) untuk diinokulasikan ke dalam 50 mL media produksi.

Produksi BNC dilakukan dengan menggunakan medium Hestrin-Schramm (HS) cair (sebagai kontrol) dan medium HS cair yang disubstitusi glukosanya dengan menggunakan limbah nanas. Medium HS cair yang disubtitusi glukosanya menggunakan limbah nanas dilakukan variasi konsentrasi yaitu 2%, 4%, 6%, dan 8% yang diberi nama medium HS-A1, HS-A2, HS-A3, dan HS-A4. Media produksi BNC yang digunakan diberikan kondisi lingkungan yang bervariasi, yaitu dengan variasi keadaan fermentasi dan variasi waktu inkubasi. Variasi keadaan fermentasi yang dilakukan adalah statis dan agitasi (*shaking*) dengan kecepatan 150 rpm. Untuk variasi waktu inkubasi yang dilakukan adalah 7 hari, 14 hari, dan 21 hari. Komposisi media yang digunakan untuk produksi BNC dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Komposisi media produksi BNC menggunakan medium HS cair modifikasi

| **Komposisi Medium** | **Nama Medium** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **HS** | **HS-A1** | **HS-A2** | **HS-A3** | **HS-A4** |
| Glukosa (g) | 1 | - | - | - | - |
| Pepton (g) | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| *Yeast extract* (g) | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 | 0,25 |
| Dinatrium hidrogen fosfat (g) | 0,135 | 0,135 | 0,135 | 0,135 | 0,135 |
| Asam sitrat (g) | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,06 |
| Limbah nanas (%) | - | 2 | 4 | 6 | 8 |

Keterangan : HS = sumber karbon glukosa (kontrol)

HS-A1 = Sumber karbon limbah nanas konsentrasi 2 %

HS-A2 = Sumber karbon limbah nanas konsentrasi 4 %

HS-A3 = Sumber karbon limbah nanas konsentrasi 6 %

HS-A4 = Sumber karbon limbah nanas konsentrasi 8 %

Medium HS cair yang disubstitusi glukosanya menggunakan limbah nanas dengan variasi konsentrai 2%, 4%, 6%, dan 8% yang telah ditambahkan 5% (v/v) inokulum isolat dan diinkubasi pada keadaan statis dan agitasi selama 7 hari, 14 hari, dan 21 hari, selanjutnya diamati pelikel BNC yang terbentuk. Pada keadaan statis, hasil positif menunjukkan terbentuknya lapisan berwarna putih seperti gel yang terdapat dipermukaan media yang dihasilkan oleh bakteri melalui proses fermentasi dengan memanfaatkan sumber karbon dan sumber nitrogen yang terdapat dalam media fermentasi yang disebut sebagai pelikel BNC. Begitu pula dengan media produksi yang diinkubasi pada keadaan agitasi, hasil positif akan menunjukkan terbentuknya pelikel berwarna putih dengan bentuk yang bulat yang diatur berdasarkan kecepatan agitasi (Sarkono dkk., 2015). Pelikel BNC yang terbentuk pada variasi konsentrasi tersebut akan dibandingkan dan dipilih yang menghasil pelikel BNC dengan berat terbesar. Kemudian pelikel BNC terpilih akan diuji lebih lanjut dan dikarakterisasi.

### 3.3.5. Pengukuran *Water Hold Capacity* (WHC) BNC

Pengukuran WHC dilakukan dengan cara mencuci pelikel BNC menggunakan akuades dan direndam dalam NaOH 0,1 M pada suhu 100°C selama 30 menit untuk menghilangkan bakteri sel-sel yang mungkin menempel pada pelikel BNC. Kemudian, dilakukan pencucian berulang menggunakan akuades sampai pH menjadi netral. Selanjutnya, pelikel tersebut ditimbang dan dicatat sebagai berat basah. Pelikel basah kemudian dikeringkan dalam oven selama 30 menit, lalu ditimbang hingga mencapai massa yang konstan dan dicatat sebagai berat kering. Rumus untuk menghitung WHC adalah:

$$\text{WHC (\% )} = \frac{\text{berat basah} - \text{berat kering}}{\text{berat basah}} \times 100\%$$

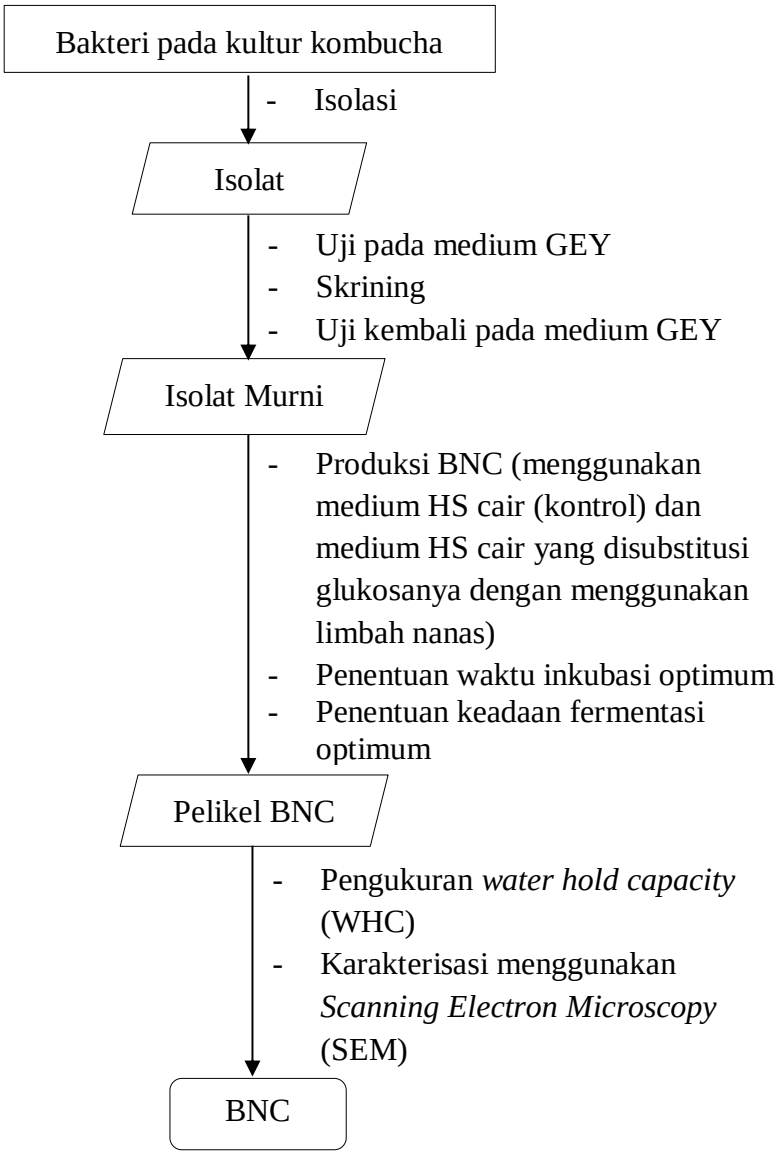
### 3.3.6. Karakterisasi BNC

Karakterisasi morfologi BNC dilakukan dengan menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscopy*). Pelikel BNC yang telah dikeringkan hingga beratnya konstan, selanjutnya dipotong kecil-kecil dan dipasang pada tembaga

menggunakan pita konduktif karbon perekat ganda dan dilapisi dengan logam emas selama 30 detik, kemudian diamati dengan instrumen SEM (Costa *et al*., 2017)**.**

### 3.4. Diagram Alir Penelitian

Adapun diagram alir pada penelitian ini adalah sebagai berikut:




**Gambar 3**. Diagram alir penelitian

# V. SIMPULAN DAN SARAN

## 5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diperoleh simpulan sebagai berikut:

1. Isolat bakteri penghasil BNC yang berhasil diisolasi dari kombucha yaitu isolat Kc-D-4 dengan indeks halo sebesar 2,6.
2. Kondisi optimum isolat Kc-D-4 dalam menghasilkan BNC pada keadaan statis dengan waktu inkubasi selama 14 hari.
3. Limbah nanas berpotensi sebagai sumber karbon alternatif pengganti glukosa dengan konsentrasi konsentrasi optimum 8% menghasilkan pelikel BNC basah sebesar 10,2 g pada waktu inkubasi 14 hari.
4. Pelikel BNC yang dihasilkan pada medium HS, HS-A1, HS-A2, HS-A3, dan HS-A4 menghasilkan WHC dengan jumlah rata-rata sebesar 97,63% dan berkualitas baik untuk diaplikasikan.
5. Karakterisasi pelikel BNC menggunakan SEM menunjukkan struktur jaringan serat saling berhubungan dan rapat serta memiliki serat berukuran nano dengan diameter 39-65 nm.

## 5.2. Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, maka disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat melakukan identifikasi lebih lanjut terhadap isolat Kc-D-4 dalam menghasilkan BNC meliputi optimasi kondisi lingkungan seperti pH dan suhu, optimasi sumber nitrogen, dan pelikel BNC yang diperoleh dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR dan XRD.

# DAFTAR PUSTAKA


Abdullah, M. dan Khairurrijal, K. 2009. Review: Karakterisasi Nanomaterial. *Jurnal Nano Saintek*. 2(1): 1–9.

Abol-Fotouh, D., Hassan, M. A., Shokry, H., Roig, A., Azab, M. S., & Kashyout, A. E. H. B. 2020. Bacterial Nanocellulose From Agroindustrial Wastes: Low Cost and Enhanced Production by *Komagataeibacter Saccharivorans* MD1. *Scientific Reports*. 10(1): 1–14.

Ahmad, S. W., Yanti, N. A., dan Wahiddin, N. H. (2019). Pemanfaatan Limbah Cair Sagu untuk Memproduksi Selulosa Bakteri (Utilization of Sago Liquid Waste for Bacterial Cellulose Production). *Jurnal Biologi Indonesia*. 15(1): 33–39.

Asthary, P. B., Sanningtyas, A. dan Pertiwi, G. A. 2020. Optimasi produksi *Bacterial Nanocellulose* dengan Metode Kultur Agitasi. *Jurnal selulosa*.10(2): 89–100.

Azizah, A. N., Darma, G. C., Darusman, F. 2016. Formulasi SCOBY (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast) dari Raw Kombucha Berdasarkan Perbandingan Media Pertumbuhan Larutan Gula dan Larutan Teh Gula. *Prosiding Farmasi*. 6(2): 325–331.

Boby, C. A., Roni, A. dan Muhsinin, S. 2021. Review: Produksi, Karakterisasi dan Aplikasi Selulosa Bakteri di Bidang Farmasi. *Journal Of Pharmacy and Science*. 4(2): 12-28.

Chawla, P.R., Bajaj I.B., Survase, S.A., and Singhal, R.S. 2009. Microbial celllulose: fermentativ production and aplications. *Food Technology and Biotechnology*. 47(2): 107-124.

Costa, A. F. S., Almeida, F. C. G., Vinhas, G. M., and Sarubbo, L. A. 2017. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using corn steep liquor as nutrient sources. *Frontiers in Microbiology*. 8: 2-4.

Hadiati, S., dan Indriyani, N. L. 2008. *Budidaya nenas*. Balai Penelitian Tanaman Buah Tropika, Pusat Penelitian dan Pengembangan Holtikultuta, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Sumatera Barat.

Herwin., Fitriana., dan Nurung, A. 2020. Isolasi Bakteri Penghasil Selulosa dari Buah-buahan Di Pasar Tradisional Makassar. *Jurnal Farmasi*.12(1): 47–50.

Hong, F., Wei, B., and Chen, L. 2015. *Preliminary Study on Biosynthesis of Bacterial Nanocellulose Tubes in a Novel Double-Silicone-Tube Bioreactor for Potential Vascular Prosthesis*. BioMed Research Internasional. China.

Hussain, Z., Sajjad, W., Khan, T., and Wahid, F. 2019. Production of bacterial cellulose from industrial wastes : a review. *Springer (Cellulose)*. 26: 2895-2911.

Khaerah, A., & Akbar, F. 2019. Aktivitas Antioksidan Teh Kombucha dari Beberapa Varian Teh yang Berbeda. *Seminar Nasional LP2M UNM*. 472–476.

Kusuma, P. A., Chuzaemi, S., dan Mashudi 2019. Pengaruh Lama Waktu Fermentasi Limbah Buah Nanas (*Ananas Comosus L. Merr*) Terhadap Kualitas Fisik dan Kandungan Nutrien Menggunakan *Aspergillus Niger*. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis*. 2(1): 1–9.

Mohammad, S. M., Rahman, N. A., Khalil, M. S., and Abdullah, S. R. S. 2014. An Overview of Biocellulose Production Using Acetobacter xylinum Culture. *Advances in Biological Research*. 8(6): 307–313.

Mulyadi, I. 2019. Isolasi dan karakterisasi Selulosa. *Jurnal Saintika UNPAM*. 1 (02): 177-179.

Nurika,I., Hidayati,N., dan Anggraeni,Y. 2007. Produksi Selulosa Menggunakan Kultur Kombucha Dari Limbah Cair Industri Tahu (Kajian Penambahan Sukrosa dan Amonium Sulfat Serta Analisis Biaya Produksinya). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 8(2): 95-102.

Okky, S.W dan Bayuseno, A.P. 2014. Analisis Kegagalan Material Pipa Ferrule Nickel Alloy N06025 Pada Waste Heat Boiler Akibat Suhu Tinggi Berdasarkan Pengujian : Mikrografi Dan Kekerasan. *Jurnal Teknik Mesin Undip*. 1(4): 33–39.

Park, J.K., Jung, J.Y., and Park, Y.H. 2003. Cellulose production by *Glunacetobacter hansenii* in a medium containing ethanol. *Biotechnology Letters*. 25(24) : 2005-2059.

Park, M. S., Jung, Y. H., Oh, S. Y., Kim, M. J., Bang, W. Y., and Lim, Y. W. 2019. Cellulosic nanomaterial production via fermentation by *komagataeibacter sp*. SFCB22-18 isolated from ripened persimmons. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 29(4): 617–624.

Permana, A. H., Yuliana, E. dan Nurhalisa, I. A. 2021. Isolasi dan Karakterisasi Morfologi Mikroorganisme pada Proses Fermentasi Kombucha Berbahan

Baku Teh Hijau (*Camellia sinensis*). *Warta Akab*. 45(2): 60–65.

Purmitasari,P. dan Hidayanto, E. 2013. Analisis Korelasi Indeks Bias Dengan Konsentrasi Sukrosa Beberapa Jenis Madu Menggunakan Portable Brix Meter. *Youngster Physics Journal*. 1(5): 191–198.

Rahma, H. and Zul, D. 2020. *Isolasi Bakteri Penghasil Selulosa dari Limbah Perkebunan Kelapa Sawit dan Buah-Buahan Asal Riau (Nanas dan Sawo) Alternatif Pengganti Kapsul Non-Halal*. (Skripsi). Bidang Mikrobiologi Jurusan Biologi. FMIPA. Kampus Bina Widya. Pekanbaru. 3–4.

Ramana, K.V., Tomar, A., and Singh, L. 2000. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by Acetobacter xylinum. *World Journal Microbiol. Biotechnol*. 16: 245-248.

Rangaswamy, B.E., Vanitha, K.P., and Hungund, B.S. 2015. Microbial cellulose production from bacteria Isolated rotten fruit. *International Journal of Polymer Science.* 1-9.

Rastina., Sudarwanto,M., dan Wientarsih,L. 2015. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kari (*Murraya Koenigii*) Terhadap *Staphylococcus aureus, Escherichia coli,* dan *Pseudomonas sp. Journal of Veterinary Sciences.* 9(2): 185-188.

Santosa, B., Tantalu, L., dan Sairo, N. W. 2022. Sintesis selulosa bakteri dari jerami kulit nangka dengan penambahan beberapa konsentrasi sukrosa. *Agromix*. 13(1): 67–73.

Sarkono., Moeljopawiro, S., Setiaji, B., dan Sembiring, L. 2015. Sifat Fisikokimiawi Selulosa Produksi Isolat Bakteri *Gluconacetobacter Xylinus* KRE-65 Pada Metode Fermentasi Berbeda. *Agritech.* 35(4): 434-440.

Sarkono, S., Hidayati, E. dan Rahman, F. 2017. Kemampuan Produksi Selulosa Isolat *Gluconacetobacter Xylinus* ANG-29 Dalam Media Air Kelapa Dan Limbah Cair Tahu. *Jurnal Ilmiah Ilmu Biologi*. 3(1): 47-52.

Sharma, C., and Bhardwaj, N. K. 2019. Bacterial nanocellulose: Present status, biomedical applications and future perspectives. *Materials Science and Engineering C*. 104 (07): 1-18.

Singh, O., Panesar, P.S. dan Chopra, H.K. 2017. Isolation and characterization of cellulose producing bacterial isolate from rotten grapes. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 14(1): 373-380.

Skocaj, M. 2019. Bacterial nanocellulose in papermaking. *Journal of Biotecnology* (*Cellulose)*. 26(11): 6477–6488.

Stefani, M.B dan Nur, H. F. 2018. *Pembuatan nata de pina dari limbah kulit nanas (ananas comusus l.merr) dengan proses fermentasi menggunakan bakteri Acetobacter xylinum.* ITS. Surabaya.

Suryantoro, H. 2017. Analisis struktur serat selulosa dari bakteri. *Prosiding SNTT 2017 Politeknik Negeri Malang*. 3(3): 17–22.

Susanto, A dan Suarsini, E. 2011. *Nata De Pina dari Limbah Cair Nanas* .UMM Press. Malang.

Trache, D., Hussin, M. H., Hui Chuin, C. T., Sabar, S., Fazita, M. R. N., Taiwo, O. F. A., Hassan, T. M., and Haafiz, M. K. M. 2016. Microcrystalline cellulose: Isolation, characterization and biocomposites application A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 93: 789–804.

Umami, R. 2016. Optimasi Sumber Karbon dan Kondisi Fermentasi Produksi Selulosa Oleh Strain Bakteri *Acetobacter lovaniensis* (MGA 6, SLK 1). *Jurnal Tadris IPA Biologi FITK IAIN Mataram*. 08(1): 61-73.

Wee, Y. J., Kim, S. Y., Yoon, S. Do, and Ryu, H. W. 2011. Isolation and characterization of a bacterial cellulose producing bacterium derived from the persimmon vinegar. *African Journal of Biotechnology*. 10(72): 16267–16276.

Wibowo, N. A., dan Isroi, D. 2015. Potensi In Vivo Selulosa Bakterial Sebagai Nano Filler Karet Elastomer Thermoplastics ( ETPS ). *Jurnal Mikrobiologi Terapan dan Bioteknologi*. 14(2): 103–112.

Yanti, N.A., Isra, W.O., dan Parakkasi, V.N.R. 2020. Potensi Limbah Cair Tahu Sebagai Sumber Nitrogen Pada Produksi Selulosa Bakteri. *Jurnal Makrobiologi*. 5: 9–17.

Zahan, K. A., Pa'e, N., Seng, K. F., and Muhamad, I. I. 2014. Monitoring Initial Glucose Concentration For Optimum pH Control During Fermentation Of Microbial Celulose In Rotatory Discs Reactor. *Key Engineering Materials*. 319–324.