

**OPTIMASI KONDISI KULTUR PRODUKSI *BACTERIAL*
NANOCELLULOSE (BNC) OLEH ISOLAT LOKAL Kc-D-4 DARI
LIMBAH CAIR INDUSTRI NANAS**

(Skripsi)

Oleh

NATASYA NATHANIELA AKBAR

1817011101



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF CULTURE CONDITIONS FOR PRODUCTION OF BACTERIAL NANOCELLULOSE (BNC) BY Kc-D-4 ISOLATE FROM PINEAPPLE INDUSTRY WASTE WATER

By

Natasya Nathaniela Akbar

Bacterial nanocellulose (BNC) is a biopolymer that has been widely applied in various fields due to its unique properties. BNC production is carried out by culturing BNC-producing bacterial strains in media containing nutrients under appropriate conditions to maximize output. This study was aimed to determine the optimum conditions for BNC production by varying pH, carbon, nitrogen, and phosphate sources. BNC production was carried out by isolate Kc-D-4 using a modified Hestrin-Schramm (HS) medium containing pineapple liquid waste with a concentration of 6% brix as a replacement for glucose source. Parameters measured included BNC pellicle weight and Water Hold Capacity (WHC). The obtained BNC pellicles were characterized using Scanning Electron Microscopy (SEM) and Fourier Transform Infrared (FTIR). The results showed that the optimum isolate Kc-D-4 produced wet pellicles of 12.1 g, using a modified HS medium at pH 4.5 with a fermentation period of 14 days. The percentage of pellicles water hold capacity (WHC) value from various variations of the culture condition's pHs, carbon, nitrogen, and phosphate sources ranged from 96%-98%. The results of BNC characterization using SEM and FTIR show that BNC pellicles are proven to be cellulose and have nano-sized fibers with a 52-92 nm diameter.

Keywords: Bacterial nanocellulose (BNC), kombucha, pineapple liquid waste, Hestrin-Schramm (HS) Medium.

ABSTRAK

OPTIMASI KONDISI KULTUR PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) OLEH ISOLAT LOKAL Kc-D-4 DARI LIMBAH CAIR INDUSTRI NANAS

Oleh

Natasya Nathaniela Akbar

Bacterial nanocellulose (BNC) adalah biopolimer yang telah banyak diaplikasikan diberbagai bidang karena sifat unik yang dimilikinya. Produksi BNC dilakukan dengan membiakkan strain bakteri penghasil BNC dalam media yang mengandung nutrisi pada kondisi yang sesuai untuk memaksimalkan produksi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum produksi BNC dengan variasi pH, sumber karbon, sumber nitrogen, dan sumber fosfat. Produksi BNC dilakukan oleh isolat Kc-D-4 dengan menggunakan medium HS termodifikasi mengandung limbah cair nanas dengan konsentrasi sebesar 6% brix sebagai pengganti sumber glukosa. Parameter yang diukur meliputi berat pelikel BNC dan *Water Hold Capacity* (WHC). Pelikel BNC yang diperoleh dikarakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *Fourier Transform Infra-Red* (FTIR). Hasil penelitian menunjukkan isolat Kc-D-4 optimum menghasilkan pelikel basah sebesar 12,1 g, menggunakan medium HS termodifikasi pada pH 4,5 dengan masa fermentasi selama 14 hari. Presentase nilai *water hold capacity* (WHC) pelikel dari berbagai variasi pH, sumber karbon, sumber nitrogen, dan sumber fosfat dari kultur berkisar antara 96%-98%. Hasil karakterisasi BNC menggunakan SEM dan FTIR menunjukkan pelikel BNC adalah benar selulosa dan memiliki serat berukuran nano dengan diameter 52-92 nm.

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

**OPTIMASI KONDISI KULTUR PRODUKSI *BACTERIAL*
NANOCELLULOSE (BNC) OLEH ISOLAT LOKAL Kc-D-4 DARI
LIMBAH CAIR INDUSTRI NANAS**

Oleh

Natasya Nathaniela Akbar

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2023

Judul Skripsi : **OPTIMASI KONDISI KULTUR PRODUKSI
BACTERIAL NANOCELLULOSE (BNC) OLEH
ISOLAT LOKAL Kc-D-4 DARI LIMBAH
CAIR INDUSTRI NANAS**

Nama Mahasiswa : *Natasya Nathaniela Akbar*


Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011101

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Mulyono, Ph.D.
NIP 19740611 200003 1 002


Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP 19720530 200003 2 001

2. a.n Ketua Jurusan Kimia
Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA


Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.
NIP 19720530 200003 2 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

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



Sekretaris : **Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.**



Anggota : **Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP 197111001 200501 1 002

Tangga Lulus Ujian Skripsi : **06 November 2023**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Natasya Nathaniela Akbar
NPM : 1817011101
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi yang berjudul “Optimasi Kondisi Kultur Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) oleh Isolat Lokal Kc-D-4 dari Limbah Cair Industri Nanas” 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 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, 23 November 2023

Yang menyatakan,



Natasya Nathaniela Akbar

NPM. 1817011101

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Natasya Nathaniela Akbar dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 10 April 2000. Anak pertama dari dua bersaudara, putri dari pasangan Bapak Akhmadi Ibrahim, S.E dan Ibu Yunani, Amd. Penulis mengawali jenjang pendidikan dari Taman Kanak-Kanak Pembina yang diselesaikan pada tahun 2006. Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 2 Rawa Laut pada Tahun 2012, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMPN 16 Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2015, dan melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMAN 4 Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2018. Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Pindahan/Transfer dari Universitas lain yang diselesaikan pada tahun 2023.

Penulis melaksanakan KKN (Kuliah Kerja Nyata) selama 40 hari yang terhitung sejak bulan Januari-Februari 2022 di Desa Pidada, Kecamatan Panjang, Kota Bandar Lampung. Selanjutnya, di tahun yang sama penulis menyelesaikan PKL (Praktik Kerja Lapangan) di Laboratorium Biokimia, Universitas Lampung. Penulis telah menyelesaikan riset penelitian dengan judul “Optimasi Kondisi Kultur Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) oleh Isolat Lokal Kc-D-4 dari Limbah Cair Industri Nanas” pada tahun 2023 di Jurusan Kimia, Universitas Lampung.

MOTTO

Don't be nervous, trust yourself

يُسْرًا أَلْتَمِرًا مَعَ يُيُورَ

“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”

(QS. Al-Insyirah: 6)

“Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal itu baik bagimu dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu, padahal itu buruk bagimu. Allah mengetahui, sedangkan kamu tidak mengetahui.”

(QS. Al-Baqarah: 216)

“There is no need to rush, my pace. Don't compare yourself with others, it's okay to run slower. Just follow my lane. Take it easy, just look ahead and run”

(My Pace – SKZ)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

“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 Akhmadi Ibrahim, S.E., dan Yunani, Amd., yang menghantarkan penulis sampai tahap ini. Terima kasih banyak atas perjuangan, doa, motivasi, perhatian, dan kasih sayang yang tiada hentinya. Semoga karya kecil ini memberikan sedikit rasa bangga di hati kalian.

Adikku,

M. Arya Putra Akbar yang memberikan semangat, dan pengertian kepada penulis.

Dengan rasa hormat,

Bapak Mulyono, Ph.D.,

Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., dan Ibu Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si., serta seluruh dosen Jurusan Kimia atas segala bimbingan dan ilmu yang telah diberikan.

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

dan

Almamater

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah SWT karena atas nikmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Optimasi Kondisi Kultur Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) oleh Isolat Lokal Kc-D-4 dari Limbah Cair Industri Nanas**” 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, memberikan kekuatan, nasihat, mendengarkan keluh kesah, serta mendukung keberhasilan yang sangat berharga bagi penulis.
2. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku ketua Jurusan Kimia, dosen pembimbing pertama, serta dosen pembimbing akademik 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 Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing kedua yang telah sabar membimbing, mengoreksi, memberikan arahan, dan saran dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan Ibu.
4. Ibu Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si. selaku dosen pembahas yang telah memberikan kemudahan, arahan, masukan, nasihat, dan saran yang

membangun dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah senantiasa membalas kebaikan Ibu.

5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
6. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung yang telah mendidik serta memberikan ilmu, dan motivasi kepada penulis selama menjadi mahasiswa.
7. Seluruh karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam atas waktu serta pelayanan yang telah diberikan dalam proses perkuliahan.
8. Sepupu dan keluarga besarku baik dari Bapak maupun Ibu. Terima kasih atas doa, dukungan, dan seluruh bantuannya selama ini.
9. Partner penelitianku PMR'19 yaitu Fatma Dita Budiarti, Lousanja Dira Sa'uddah, dan Alinil Masruroh. Terima kasih atas kerja sama, motivasi, dan saling menyemangati walaupun banyak kesulitan dan rintangan namun tetap berjuang bersama sampai selesainya penelitian ini.
10. Sahabat-sahabat baikku, Dina Soraya, Sekar Ayu Kinasih, Destry Putri Pusbandari, Raffa Dilla Annisaa, Eka Sari Wulandari, M. Arif Al Fadillah dan M. Rafli Hadi yang telah memberikan kebahagiaan, serta membantu dikala kesusahan dan kebingungan dalam kuliah dan menyelesaikan tugas akhir ini.
11. Teman-teman seperjuangan, Alyaa Fathia Kesuma, Febiana Nabila, Sulfiyany Nuralifah, Mhd. Afif Alim Nasution, dan Fatur Rohim terima kasih atas bantuan yang tak terkira, motivasi dan selalu ada dalam keadaan suka maupun duka selama 4 tahun ini. See you on top, guys~
12. "Kimia Kelas B 2019" yang telah kebersamai dalam proses perkuliahan. Terima kasih atas kerja sama, memberikan semangat, ilmu, bantuan, dan keceriaan kepada penulis.
13. Rekan-rekan penelitian *peergrup* Biokimia, Ayur, Ejak, Astin, Cindi, Putpita, Adiya, Dienus, Cella, Nabila, Rara, Diah Indah, Hilda, Partini, Neng Wiwit, Putri, Verinda, dan Yori atas kerja sama, keceriaan, saling menyemangati, dan berbagi keluh kesah selama penelitian berlangsung.
14. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang secara tulus memberikan bantuan kepada penulis.

15. Natasya Nathaniela Akbar, *last but not least*, ya! diri saya sendiri. Apresiasi sebesar-besarnya karena telah bertanggung jawab untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih karena terus berusaha dan tidak menyerah, serta senantiasa menikmati setiap prosesnya yang tidak mudah. Terima kasih sudah bertahan.

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, 23 November 2023

Penulis

Natasya Nathaniela Akbar

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Selulosa	4
2.1.1 Pengertian Selulosa.....	4
2.1.2 Sifat-Sifat Selulosa.....	5
2.1.3 Sumber Selulosa.....	5
2.2 Nanoselulosa	6
2.3 <i>Bacterial Nanocellulose</i> (BNC)	7
2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi BNC	8
2.4.1 Pengaruh Medium Pertumbuhan.....	8
2.4.2 Kondisi Lingkungan.....	9
2.5 Karakterisasi BNC.....	10
2.5.1 <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	10
2.5.2 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	11
2.6 Aplikasi BNC	12

2.7 Isolat Kc-D-4	13
III. METODE PENELITIAN	14
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	14
3.2 Alat dan Bahan	14
3.3 Metode Penelitian	14
3.3.1 Tahap Persiapan Alat	14
3.3.2 Tahap Pembuatan Media.....	15
3.3.3 Peremajaan Isolat Kc-D-4.....	16
3.3.4 Penyiapan Inokulum	16
3.3.5 Optimasi Kondisi Kultur Isolat.....	16
3.3.5.1 Kondisi Kultur Standar.....	16
3.3.5.2 Variasi pH Kultur	17
3.3.5.3 Variasi Sumber Karbon	17
3.3.5.4 Variasi Sumber Nitrogen.....	17
3.3.5.5 Variasi Sumber Fosfat	17
3.3.6 Pengukuran <i>Water Hold Capacity</i> (WHC) BNC	18
3.3.7 Karakterisasi BNC	18
3.3.7.1 <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM).....	19
3.3.7.2 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR)	19
3.4 Diagram Alir.....	19
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
4.1 Isolat Bakteri Kc-D-4.....	21
4.2 Inokulum Isolat Bakteri Kc-D-4	22
4.3 Pelikel <i>Bacterial Nanocellulose</i> (BNC) dari Isolat Kc-D-4	23
4.3.1 Kondisi Kultur Isolat Kc-D-4 Penghasil BNC.....	24
4.3.1.1 pH Kultur Optimum	24
4.3.1.2 Sumber Karbon Optimum	27
4.3.1.3 Sumber Nitrogen Optimum	30
4.3.1.4 Sumber Fosfat Optimum	33
4.3.2 Produksi Pelikel BNC oleh Isolat Kc-D-4 pada Berbagai Kondisi Kultur	36

4.4	<i>Water Hold Capacity</i> (WHC) Pelikel BNC	39
4.5	Karakteristik Nanoselulosa Bakterial	41
4.5.1	Morfologi Permukaan BNC	41
4.5.2	Spektrum IR BNC	43
V.	SIMPULAN DAN SARAN	46
5.1	Simpulan	46
5.2	Saran	46
	DAFTAR PUSTAKA	47
	LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai pH.....	26
2. Perbandingan pH Optimum Produksi BNC pada Hasil Penelitian.....	27
3. Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai Sumber Karbon (pada pH 4,5 dan medium HS Termodifikasi).....	29
4. Perbandingan Sumber Karbon Optimum Produksi BNC pada Hasil Penelitian.....	30
5. Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai Sumber Nitrogen (pada pH 4,5 dan medium HS Termodifikasi).....	32
6. Perbandingan Sumber Nitrogen Optimum Produksi BNC pada Hasil Penelitian.....	33
7. Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai Sumber Fosfat (pada pH 4,5 dan medium HS Termodifikasi).....	35
8. Perbandingan Sumber Fosfat Optimum Produksi BNC pada Hasil Penelitian.....	36
9. Data Hasil Optimum Produksi BNC oleh isolat Kc-D-4 dengan Medium HS Termodifikasi pada Berbagai Kondisi Kultur.....	37
10. Nilai WHC Pelikel BNC Produk Isolat Kc-D-4 pada Berbagai Kondisi Kultur.....	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur selulosa.....	4
2. Sumber selulosa: (a) kayu keras (pohon beech), (b) bambu, (c) kapas, (d) sisal, (e) tunicine dan (f) <i>Gluconacetobacter xylinum</i>	6
3. Mikrograf SEM dari BNC.....	11
4. Spektrum FTIR dari BNC	12
5. Diagram alir penelitian.....	20
6. Pertumbuhan Isolat Kc-D-4 pada medium HS Agar.....	22
7. Isolat Kc-D-4 pada Media HS Agar di Cawan Petri dan Agar Miring	22
8. Hasil Produksi BNC isolat Kc-D-4 pada berbagai pH.....	25
9. Grafik Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai pH	26
10. Hasil Produksi BNC isolat Kc-D-4 pada berbagai sumber karbon.....	28
11. Grafik Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai Sumber Karbon.....	29
12. Hasil Produksi BNC isolat Kc-D-4 pada berbagai Sumber Nitrogen.....	31
13. Grafik Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai Sumber Nitrogen....	32
14. Hasil Produksi BNC isolat Kc-D-4 pada Berbagai Sumber Fosfat.....	34
15. Grafik Perbandingan Berat Pelikel BNC pada Berbagai Sumber Fosfat.....	35
16. Contoh pelikel BNC.....	40
17. Grafik Perbandingan Presentase <i>Water Hold Capacity</i> (WHC).	41
18. Morfologi Permukaan pelikel BNC.....	42
19. Spektrum IR BNC.....	44

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selulosa adalah polimer alam yang tersusun atas monomer-monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan glikosidik β -1,4. Selulosa banyak ditemukan pada tanaman dan mikroorganisme seperti jamur, bakteri, dan alga. Selulosa yang dihasilkan oleh bakteri disebut sebagai selulosa bakterial yang dapat dikelompokkan sebagai nanomaterial selulosa dan dikenal sebagai *bacterial nanocellulose* (BNC). BNC diproduksi oleh bakteri dari genus *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Gluconacetobacter*, *Rhizobium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Aerobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Escherichia*, dan *Sarcina*. Mikroba penghasil BNC dapat diperoleh dari sampel buah busuk seperti jeruk, kelapa, apel, dan nanas, sayuran, cuka, dan minuman beralkohol (Rangaswamy *et al.*, 2015).

BNC memiliki sifat yang unik seperti luas permukaan yang besar, derajat polimerisasi yang tinggi, mampu menyerap air dalam jumlah besar, memiliki kekuatan tarik yang baik, non toksis, dan mudah dibiodegradasi (Asthary *et al.*, 2020). BNC juga tidak mengandung kontaminan seperti hemiselulosa, lignin serta produk metabolisme lainnya yang biasa terdapat pada selulosa tanaman. Berdasarkan sifat tersebut, BNC telah banyak diaplikasikan di berbagai bidang. Pada bidang makanan, BNC digunakan sebagai pengental serta penstabil untuk menghasilkan berbagai makanan seperti tofu dan es krim. Pada bidang biomedis digunakan sebagai pembalut luka, sebagai membran untuk pengiriman obat-obatan, dan sebagai komponen dalam perbaikan tulang rawan. Selain itu, dapat

juga digunakan sebagai campuran kosmetik, tekstil, audio speaker diagram, dan dalam pembuatan kertas (Rangaswamy *et al.*, 2015)

BNC dapat diproduksi dengan membiakkan strain bakteri asam asetat dalam media yang mengandung nutrisi termasuk glukosa sebagai sumber karbon. Produksi BNC dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kemampuan strain bakteri dalam menghasilkan BNC, kondisi lingkungan, dan media fermentasi (Rangaswamy *et al.*, 2015). Dalam pemilihan media fermentasi harus memperhatikan kandungan nutrisi didalamnya dan biaya media fermentasi. Media fermentasi yang biasa digunakan untuk memproduksi BNC adalah medium Hestrin-Schramm (HS) yang mengandung glukosa, *yeast extract*, pepton, asam sitrat, dan Na_2HPO_4 . Pada medium HS penggunaan glukosa sebagai sumber karbon menjadi kurang efisien karena biaya media fermentasi yang tinggi. Oleh sebab itu, dibutuhkan bahan lain yang dapat digunakan sebagai sumber karbon alternatif dalam produksi BNC.

Industri pengolahan nanas adalah salah satu industri pengolahan buah yang terdapat di Provinsi Lampung. Limbah cair yang dihasilkan dari aktivitas industri tersebut mengandung air, karbohidrat, protein, dan serat kasar (Nurbaiti, 2022). Karbohidrat dan protein tersebut dapat digunakan sebagai sumber nutrisi alami dalam media fermentasi untuk produksi BNC. Pada laboratorium biokimia telah diperoleh isolat lokal mikroba penghasil BNC dari limbah cair nanas yaitu isolat Kc-D-4. Hasil penelitian Nurbaiti (2022) menunjukkan isolat Kc-D-4 mampu menghasilkan BNC dengan kemampuan produksi sebesar 10,2 gram pada keadaan statis. Namun, optimasi produksi BNC dari isolat lokal mikroba penghasil BNC ini masih perlu dilakukan untuk memperoleh hasil BNC yang lebih tinggi. Berdasarkan uraian tersebut, maka pada penelitian ini dilakukan optimasi kondisi kultur produksi BNC oleh isolat Kc-D-4, khususnya pada variasi pH, variasi sumber karbon, variasi sumber nitrogen, dan variasi sumber fosfat. Hasil yang diperoleh diharapkan dapat bermanfaat dalam upaya meningkatkan produksi BNC.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Menentukan kondisi optimum produksi BNC oleh isolat Kc-D-4 melalui variasi pH, sumber karbon, sumber nitrogen, dan sumber fosfat pada medium kultur.
2. Mengetahui karakteristik pelikel BNC dengan menggunakan SEM dan FTIR.

1.3 Manfaat Penelitian

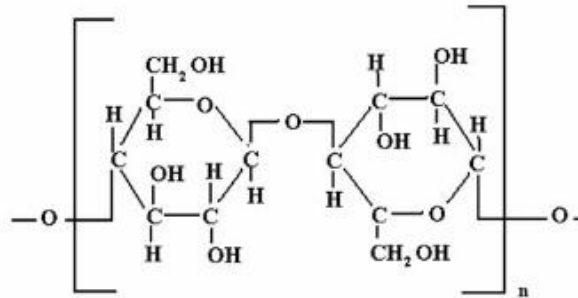
Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kondisi kultur optimum pada produksi BNC sehingga dapat meningkatkan produksi BNC.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Selulosa

2.1.1 Pengertian Selulosa

Selulosa merupakan polisakarida yang memiliki rumus molekul $(C_6H_{12}O_6)_n$. Selulosa dapat ditemukan di dinding sel pelindung seperti batang tanaman, dahan, dan daun dari tumbuh-tumbuhan. Molekul tunggal selulosa adalah polimer rantai lurus dari 1,4- β -D-glukosa yang terikat oleh ikatan glikosida. Molekul-molekul selulosa memiliki kecenderungan yang kuat untuk membentuk ikatan hidrogen intramolekul dan intermolekul (Sjotsrom, 1998). Struktur dari selulosa dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Selulosa (Mulyawan et al., 2015).

Selulosa memiliki sifat tidak larut dalam berbagai macam pelarut dan tahan terhadap perlakuan dengan berbagai bahan kimia, kecuali asam kuat. Hal ini disebabkan oleh adanya ikatan hidrogen antar gugus hidroksil dalam rantai selulosa. Secara umum, adanya interaksi dengan lingkungan tempat tumbuh berkontribusi pada variasi komponen dinding sel tumbuhan termasuk selulosa (Fatriasari *et al.*, 2019).

2.1.2 Sifat-Sifat Selulosa

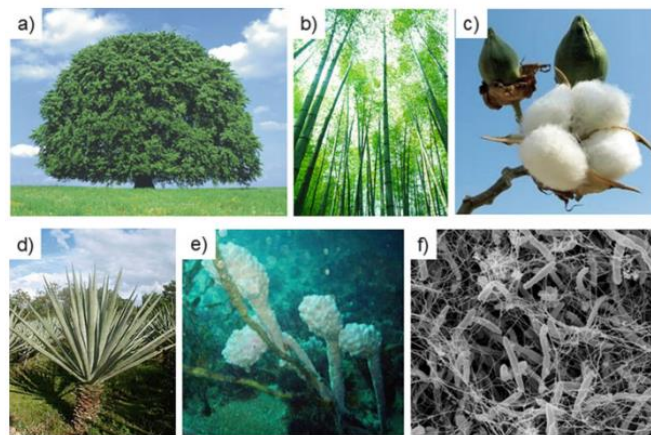
Selulosa memiliki beberapa sifat, baik sifat fisik maupun sifat kimia. Secara fisik, selulosa murni berwarna putih, dapat didegradasi, tidak beracun, serta memiliki kuat tarik dan tekan yang tinggi. Selulosa dapat bereaksi dengan hidrokarbon, alkohol, keton, asam, ester, amida, halogen, hidrazin, dan lainnya. Selain itu, selulosa juga dapat bereaksi dengan basa kuat, dengan urutan reaksi $\text{LiOH} > \text{NaOH} > \text{KOH} > \text{RbOH} > \text{Ca(OH)}_2$ (Fatriasari *et al.*, 2019). Selulosa dengan rantai panjang mempunyai sifat fisik yang lebih kuat, dan lebih tahan lama terhadap degradasi yang disebabkan oleh pengaruh panas, bahan kimia, maupun pengaruh biologis. Selulosa dapat terdegradasi oleh hidrolisa, oksidasi, fotokimia maupun secara mekanis sehingga berat molekulnya menurun. Selulosa dalam keadaan kering bersifat higroskopis, keras, dan rapuh (Octaviana, 2017).

Secara alami, selulosa memiliki sifat hidrofilik atau suka air. Pada dinding sel, molekul air yang terikat dengan gugus hidroksil (-OH) sebagai unsur kimia pembentuk dinding sel disebut *bounded water*. Hal ini dipengaruhi oleh adanya ikatan hidrogen intermolekuler dan intramolekuler antarmonomer glukosa dalam polimer selulosa (Fatriasari *et al.*, 2019).

2.1.3 Sumber Selulosa

Selulosa dapat diekstraksi dari berbagai tanaman, hewan, dan bakteri. Perbedaan sumber selulosa dapat mempengaruhi ukuran dan sifat selulosa yang diekstraksi serta metode isolasi selulosa yang digunakan (Kargarzadeh *et al.*, 2017). Sumber selulosa yang paling utama berasal dari bahan tanaman kayu, selain bersumber dari kayu selulosa juga dapat berasal dari kapas, kapuk, serat kulit, bambu, alang-alang, padi, tebu, dan sorgum. Selulosa yang berasal dari tanaman dikenal sebagai selulosa tanaman (Fatriasari *et al.*, 2019). Selulosa yang berasal dari tanaman hampir tidak pernah ditemui dalam keadaan murni di alam, melainkan selalu berikatan dengan bahan lain seperti lignin dan hemiselulosa. Adanya lignin serta hemiselulosa di sekeliling selulosa tanaman merupakan hambatan utama untuk menghidrolisis selulosa (Sutini *et al.*, 2020).

Beberapa jamur dan ganggang hijau dapat menghasilkan selulosa (misalnya, *Valonia ventricosa*, *Chaetomorpha melagonicum*, *Glaucocystis*) dan beberapa hewan laut seperti ascidian mengandung selulosa dalam membran luarnya. Selain itu, bakteri dari genus *Gluconacetobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, dan *Sarcina* juga dapat mensintesis selulosa bakteri dari glukosa dan berbagai sumber karbon lainnya. Selulosa yang berasal dari bakteri disebut dengan selulosa bakteri (Fritz *et al.*, 2016). Selulosa bakteri ditemukan dalam bentuk murni, bebas dari kontaminan seperti hemiselulosa, lignin serta produk metabolisme lainnya. Selulosa bakteri memiliki beberapa keunggulan dibandingkan selulosa tanaman karena sifat fisika dan kimianya yang unik. Selulosa bakteri memiliki kemurnian tinggi, kristalinitas tinggi, biokompatibilitas, derajat polimerisasi yang tinggi, kekuatan mekanik yang tinggi, dan memiliki elastisitas yang lebih baik dari selulosa tanaman (Singh *et al.*, 2017). Sumber selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Sumber Selulosa: (a) kayu keras (pohon beech), (b) bambu, (c) kapas, (d) sisal, (e) tunicine dan (f) *Gluconacetobacter xylinum* (Fritz *et al.*, 2016).

2.2 Nanoselulosa

Nanoselulosa adalah serat alami yang dapat diekstraksi dari selulosa. Nanoselulosa merupakan serat nano *biodegradable* dengan bobot ringan, kepadatan rendah, dan memiliki kekuatan tarik yang tinggi (Phanthong *et al.*, 2018). Nanoselulosa memiliki diameter 1-100 nm dan panjang 500-2000 nm.

Dimensi ukuran yang dimiliki nanoselulosa dapat membuat mempunyai luas permukaan yang tinggi serta jumlah gugus hidroksil yang tinggi sehingga memudahkan jika dilakukan modifikasi permukaan. Beberapa teknik dikembangkan untuk mengekstrak nanoselulosa dari selulosa diantaranya hidrolisis asam, hidrolisis enzimatis, dan proses mekanis. Adapun penggunaan masing-masing metode ekstraksi dimungkinkan menghasilkan tipe dan properti nanoselulosa yang berbeda (Ningtyas *et al.*, 2020).

Nanoselulosa dapat dikategorikan menjadi tiga jenis utama yaitu selulosa nanokristalin, selulosa nanofibril, dan nanoselulosa bakterial. Selulosa nanofibril dikenal juga dengan sebutan selulosa mikrofibril, biasa diekstrak dari selulosa fibril menggunakan proses mekanis dimana bagian kristalin dan amorf masih tetap ada. Nanokristal dapat diperoleh dari serat asli hasil dari hidrolisis asam, hasilnya berupa nanopartikel kristal dan bertekstur kaku. Nanoselulosa bakterial berbeda dari dua jenis nanoselulosa lainnya, selulosa nanokristalin dan selulosa nanofibril diekstraksi dari biomassa lignoselulosa, sedangkan nanoselulosa bakterial dihasilkan oleh bakteri. Meskipun semua jenis nanoselulosa tersebut serupa dalam komposisi kimia tetapi berbeda dalam morfologi, ukuran partikel, kristalinitas, dan beberapa sifat karena perbedaan sumber serta metode ekstraksi yang digunakan (Phanthong *et al.*, 2018).

2.3 Bacterial Nanocellulose (BNC)

Bacterial nanocellulose adalah hasil sintesis dari bakteri aerobik seperti bakteri asam asetat yang berbentuk selulosa murni berukuran nano dengan panjang kurang dari 100 nm dan lebar 2-4 nm (Asthary *et al.*, 2020). BNC pertama kali ditemukan pada tahun 1886 oleh A.J. Brown, kemudian pada tahun 1957 Hestrin dan Colvin mulai melakukan produksi selulosa menggunakan *A. xylinum* dengan glukosa sebagai sumber karbon. Pada pertengahan tahun 1980-an, sifat mekanik yang luar biasa dari BNC dilaporkan oleh Iguchi yang menyebabkan penelitian terkait BNC berkembang pesat hingga saat ini (Charreau *et al.*, 2013). Selain itu, BNC menampilkan banyak sifat unik penting lainnya dan memiliki potensi besar

di bidang manufaktur tekstil, produk berbasis kertas, industri makanan, bahan biomedis, dan bionanokomposit fungsional canggih (Chen *et al.*, 2018).

BNC dihasilkan dari proses penumpukan gula dengan berat molekul rendah oleh bakteri, terutama bakteri *Gluconacetobacter xylinus* selama beberapa hari hingga dua minggu. BNC yang dihasilkan dalam bentuk murni tanpa adanya komponen lain dari biomassa lignoselulosa seperti lignin, hemiselulosa, pektin dan sebagainya (Handayani, 2021). Menurut Gao *et al.*, (2020) ada dua metode utama untuk menghasilkan BNC oleh strain bakteri yaitu dengan kultur statis, dan dengan kultur agitasi. Pada kultur statis akan dihasilkan akumulasi pelikel putih pada fasa antar-muka udara-cair. Kultur statis dan kultur agitasi akan menghasilkan sifat morfologi, fisik, dan mekanik dari polimer yang bervariasi sesuai dengan metode kultur yang digunakan. BNC memiliki ciri struktur morfologi yang dapat digambarkan sebagai struktur serat berukuran nano yang dapat dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscop* (SEM). Pada hasil analisis SEM akan diketahui kenampakan permukaannya atau karakteristik morfologi dari BNC, topografi, dan informasi kristalografi (Singh *et al.*, 2017).

2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi BNC

Produksi BNC dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu medium pertumbuhan dan kondisi lingkungan. Faktor lingkungan yang mempengaruhi produksi selulosa adalah pH, temperatur, dan ketersediaan oksigen.

2.4.1 Pengaruh Medium Pertumbuhan

a. Sumber karbon

Sumber karbon merupakan salah satu sumber nutrisi yang penting dalam pertumbuhan bakteri penghasil BNC. Sumber karbon yang paling umum digunakan untuk produksi BNC adalah glukosa dan sukrosa, namun karbohidrat lain seperti fruktosa, maltosa, xilosa, pati dan gliserol juga dapat digunakan. Jenis dan konsentrasi dari sumber karbon sangat mempengaruhi produksi dari BNC, karena jika bakteri penghasil BNC tidak dapat menggunakan sumber karbon

secara optimal maka hasil BNC yang diperoleh juga kurang baik. Selain itu, pembentukan asam glukonat sebagai produk sampingan dalam medium dapat menurunkan produksi BNC (Raghunathan, 2013).

b. Sumber Nitrogen

Nitrogen merupakan komponen utama protein yang diperlukan dalam metabolisme sel, dan terdiri dari 8-14% dari berat kering sel bakteri. Sumber nitrogen digunakan sebagai nutrisi untuk pertumbuhan bakteri penghasil BNC. Sumber nitrogen yang dapat digunakan yaitu pepton, urea, ammonium nitrat, ammonium sulfat, dan natrium nitrat (Raghunathan, 2013).

2.4.2 Kondisi Lingkungan

a. Suhu

Suhu adalah parameter penting yang mempengaruhi pertumbuhan, struktur kristal, dan morfologi pada produksi BNC. Pada sebagian besar percobaan, suhu optimum produksi BNC yaitu 20°C - 40°C (Raghunathan, 2013).

b. Derajat keasaman (pH)

Nilai pH mempengaruhi struktur dan permeabilitas membran sel bakteri, yang dapat mempengaruhi produksi BNC (Ashrafi *et al.*, 2019). Pada rentang pH 4.0 – 6.0 adalah pH optimum untuk produksi selulosa bakteri. Jika pH dibawah 4 maka produksi selulosa akan menurun (Park *et al.*, 2019).

c. Oksigen

Oksigen di dalam media kultur adalah faktor penting yang berpengaruh terhadap produksi BNC. Bakteri penghasil BNC seperti *Gluconacetobacter xylinus* atau *Acetobacter xylinum* memerlukan oksigen untuk pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga apabila kekurangan oksigen pertumbuhan dan perkembangan bakteri tersebut akan terhambat.

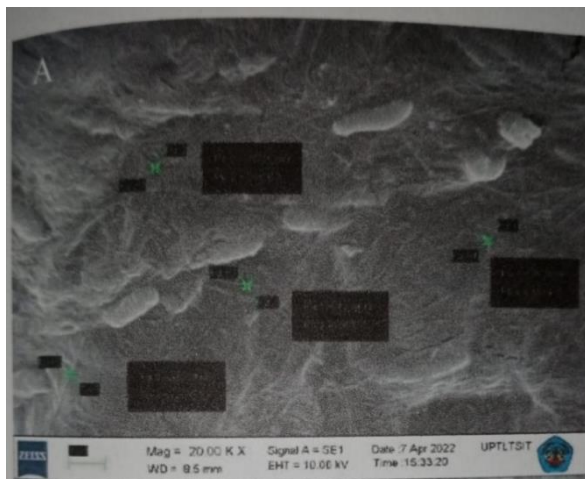
2.5 Karakterisasi BNC

Karakterisasi nanoselulosa bakterial dapat dilakukan dengan menggunakan alat instrumen *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

2.5.1 *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Scanning Electron Microscopy (SEM) merupakan mikroskop elektron yang dapat digunakan untuk mengamati morfologi permukaan dalam skala mikro dan nano. SEM menggunakan elektron sebagai sumber pencitraan dan medan elektromagnetik sebagai lensanya (Rianita *et al.*, 2014). Prinsip kerja SEM adalah menembakkan permukaan benda dengan berkas elektron berenergi tinggi. Permukaan benda yang dikenai berkas akan memantulkan kembali berkas tersebut atau menghasilkan elektron sekunder ke segala arah. Detektor di dalam SEM akan mendeteksi elektron yang dipantulkan dan menentukan lokasi berkas yang dipantulkan dengan intensitas tertinggi. SEM digunakan untuk mengetahui karakteristik morfologi dari selulosa bakteri, topografi, dan informasi kristalografi. Adapun keunggulan dari SEM adalah memiliki daya pisah tinggi, menampilkan data permukaan spesimen, dan kemudahan dalam menyimpan spesimen (Singh *et al.*, 2017).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Nurbaiti (2022), hasil analisis SEM pelikel BNC yang dihasilkan memiliki morfologi dengan struktur jaringan serat saling terhubung dan rapat serta memiliki serat berukuran nano dengan diameter 39-65 nm pada perbesaran 20.00 kali. Mikrograf SEM dari BNC dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Mikrograf SEM dari BNC (Nurbaiti, 2022).

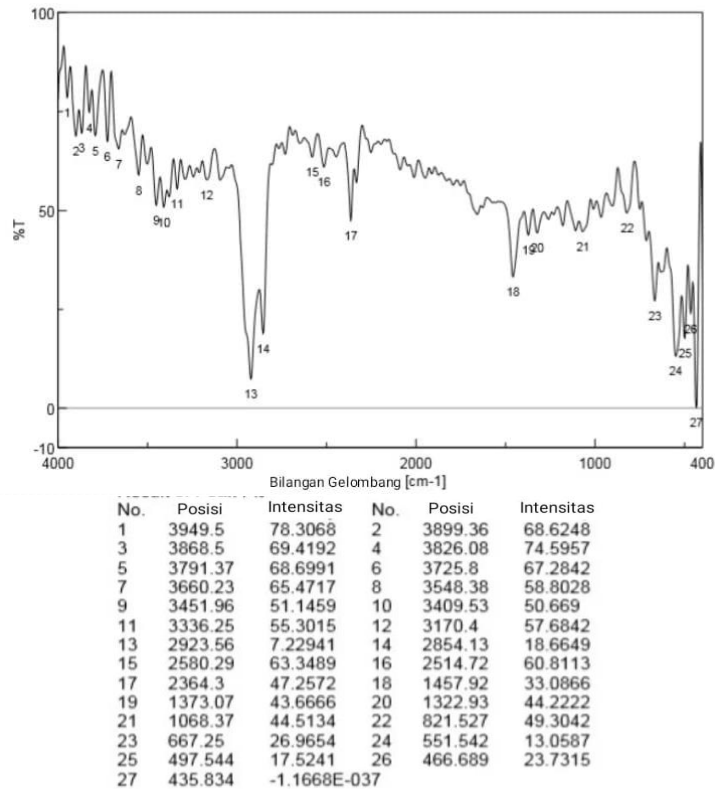
2.5.2 *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

Fourier Transform Infrared (FTIR) adalah alat instrumen yang didasarkan pada intensitas dan panjang gelombang penyerapan radiasi infrared. Instrumen FTIR digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, dan mengidentifikasi senyawa penyusun suatu sampel yang dianalisis. Bilangan gelombang yang menjadi acuan untuk melihat vibrasi molekul suatu senyawa adalah $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.

Keuntungan dari FTIR adalah dapat memberikan hasil analisis yang cepat dan akurat tanpa merusak sampel dan memiliki tingkat efisiensi yang tinggi (Buana dan Fajriati, 2019).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Asthary *et al.*, (2020), berdasarkan hasil spektrum FTIR dari sampel BNC terdapat pita *transmittant* pada beberapa bilangan gelombang yang menjadi ciri khas dari BNC, yaitu pita *transmittant* pada bilangan gelombang 3726 , 3452 , dan 3410 cm^{-1} yang merupakan serapan karena renggangan dari gugus hidroksil (-OH). Pita *transmittant* pada bilangan 2923 , dan 2854 cm^{-1} menunjukkan tinggi serapan karena banyaknya gugus -CH₂. Pita *transmittant* pada bilangan gelombang 1458 cm^{-1} menunjukkan serapan karena gugus karbonil (C-H). Pita *transmittant* pada bilangan gelombang 1373 cm^{-1} menunjukkan serapan karna deformasi gugus -CH, dan 1323 cm^{-1} menunjukkan serapan karna deformasi gugus -OH, serta 1066 cm^{-1} yang menunjukkan serapan

karena renggangan gugus C-O-C. Spektrum FTIR dari BNC dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektrum FTIR dari BNC (Asthary *et al.*, 2020).

2.6 Aplikasi BNC

BNC memiliki banyak kelebihan sehingga telah banyak digunakan pada bidang makanan, bidang medis, kosmetik, industri elektronik, dan dalam pembuatan kertas. Pada bidang makanan, BNC dapat digunakan sebagai pengental, penstabil, atau *suspending agent* untuk menghasilkan berbagai makanan seperti makanan penutup, tofu, es krim, dan minuman coklat (Corral *et al.*, 2017). Pada bidang medis, BNC dapat digunakan sebagai pembalut luka dalam proses penyembuhan luka kronis dan luka bakar. Pada bidang kosmetik, campuran dari nanoselulosa dengan ekstrak propolis digunakan sebagai bahan baku masker yang bersifat anti-inflamasi untuk kulit yang rentan terhadap jerawat (de Amorim *et al.*, 2020). Selain itu, penambahan BNC saat pembuatan kertas dapat menambah kekuatan dan daya tahan dari kertas yang dihasilkan (Keshk, 2014).

2.7 Isolat Kc-D-4

Isolat Kc-D-4 merupakan isolat yang didapatkan dari hasil isolasi bakteri penghasil BNC, dengan sampel yang digunakan adalah kombucha. Kombucha yang digunakan berasal dari Denpasar yang memiliki berat 113 g dengan volume inokulan sebanyak 102 mL. Isolat tersebut kemudian ditumbuhkan dalam media Hestrin-Schramm (HS) yang dimodifikasi sumber karbonnya menggunakan limbah nanas dengan nilai brix sebesar 8%, dan diinkubasi selama 14 hari dalam keadaan statis. Limbah nanas yang digunakan diperoleh dari swalayan (pemotongan buah) di Kedaton, Bandar Lampung. Limbah nanas dibuat dengan menghancurkan bagian kulit, hati, dan sebagian dagingnya lalu disaring. Produksi BNC oleh isolat Kc-D-4 dari limbah nanas menghasilkan pelikel BNC sebesar 10,2 gram dengan WHC sebesar 97,30% (Nurbaiti, 2022).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2022 – Juni 2023 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi BNC dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, Erlenmeyer, gelas beaker, gelas ukur, jarum ose, bunsen, autoklaf (model S-90N), cawan petri, refraktometer, mikropipet, *waterbath*, oven, *Laminar Air Flow* (CURMA model 9005-FL), *Scanning Electron Microscopy* (SEM), *Fourier Transform Infrared (FTIR)*, *shaker*, neraca digital, inkubator, pH meter, dan *hot plate*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah D-glukosa, fruktosa, galaktosa, pepton, *yeast extract*, kasa, asam sitrat, akuades, NaOH, CaCO₃, Na₂HPO₄, HCl, bubuk agar, kertas saring, KH₂PO₄, K₂HPO₄, *beef extract*, NH₄Cl, (NH₄)₂SO₄, NaNO₃, kapas, limbah cair nanas, dan isolat Kc-D-4.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Tahap Persiapan Alat

Tahap persiapan alat dimulai dengan sterilisasi. Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan mikroba yang tidak diinginkan pada alat. Alat-alat gelas yang

akan digunakan dicuci terlebih dahulu, kemudian dikeringkan, dan dibungkus menggunakan kertas. Alat-alat yang sudah dibungkus menggunakan kertas disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Kemudian alat-alat gelas tersebut dikeringkan menggunakan oven.

3.3.2 Tahap Pembuatan Media

Isolat bakteri penghasil nanoselulosa bakterial ditumbuhkan di medium standar Hestrin-Schramm (HS). Untuk media agar miring menggunakan medium HS agar, sedangkan untuk media fermentasi menggunakan medium HS cair dan medium HS cair termodifikasi. Adapun komposisi dan cara pembuatan media sebagai berikut:

a. Medium HS Agar

Pembuatan medium HS Agar yaitu sebanyak 2 g glukosa, 0,5 g pepton, 0,5 g yeast extract, 0,27 g Na_2HPO_4 , 0,12 g asam sitrat dan 2 g bubuk agar ditimbang, dan dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya medium dipanaskan hingga bahan larut dan pH medium dibuat menjadi 6. Kemudian medium disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

b. Medium HS Cair

Pembuatan medium HS cair yaitu sebanyak 2 g glukosa, 0,5 g pepton, 0,5 g yeast extract, 0,27 g Na_2HPO_4 , dan 0,12 g asam sitrat ditimbang, dan dilarutkan dalam 100 mL akuades. Selanjutnya medium dipanaskan hingga bahan larut dan pH medium dibuat 6. Kemudian medium disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

c. Medium HS Cair Termodifikasi

Pembuatan medium HS cair termodifikasi yaitu sebanyak 0,5 g pepton, 0,5 g yeast extract, 0,27 g Na_2HPO_4 , dan 0,12 g asam sitrat ditimbang, dan dilarutkan dalam 100 mL limbah cair nanas. Selanjutnya medium dipanaskan hingga bahan

larut dan pH medium dibuat 6. Kemudian medium disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

3.3.3 Peremajaan Isolat Kc-D-4

Tahap peremajaan bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri yang murni, dan memiliki aktivitas yang baik. Kultur isolat Kc-D-4 diremajakan dalam media standar Hestrin-Schramm agar. Stok gliserol beku isolat Kc-D-4 dicairkan terlebih dahulu hingga mencapai suhu ruang. Kemudian, sebanyak 100µL cairan isolat dipindahkan pada medium HS agar dan ditambahkan 100µL larutan salin steril. Selanjutnya, keduanya dicampurkan menggunakan batang L dengan gerakan memutar hingga mengenai seluruh permukaan medium agar, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah isolat tumbuh, dilakukan pemurnian dengan cara digores secara aseptis pada medium HS agar plate. Sebanyak 1 ose kultur diambil dan dilakukan pemurnian dengan metode *streak plate* pada 4 kuadran dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

3.3.4 Penyiapan Inokulum

Sebanyak 2 ose diambil dari masing-masing stok kultur hasil peremajaan, lalu diinokulasikan pada 25 mL media HS cair. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 20 jam dan dalam kondisi agitasi (diaduk dengan *shaker*) dengan kecepatan 125 rpm.

3.3.5 Optimasi Kondisi Kultur Isolat

3.3.5.1 Kondisi Kultur Standar

Medium yang digunakan adalah medium HS Cair dengan glukosa sebagai sumber karbon dan medium HS-termodifikasi (dengan limbah cair nanas mengandung glukosa dengan nilai brix 8%). Nilai pH di awal kultur adalah 6 dan dalam kondisi statis.

3.3.5.2 Variasi pH Kultur

Sebanyak 5% (v/v) kultur inokulum diinokulasikan ke dalam 50 mL media fermentasi HS-termodifikasi dalam botol kaca 140 mL. Kemudian diinkubasi dengan variasi pH masing-masing yaitu 4,5; 5,0; 5,5; dan 6,0 selama 14 hari, lalu diukur berat BNC yang dihasilkan. Sebagai kontrol adalah isolat yang ditumbuhkan pada kondisi standar.

3.3.5.3 Variasi Sumber Karbon

Medium pertumbuhan dengan hasil variasi pH kultur terbaik kemudian dilakukan variasi sumber karbon (C). Sebanyak 5% (v/v) kultur inokulum diinokulasikan ke dalam 50 mL media fermentasi HS-termodifikasi yang telah ditambahkan dengan variasi sumber karbon yaitu D-glukosa, fruktosa, dan galaktosa dengan konsentrasi 2% (w/v). Sumber C terbaik diuji lebih lanjut dengan variasi konsentrasi 2%, 3%, 4%, dan 5%. Selanjutnya difermentasi selama 14 hari pada suhu ruang dalam kondisi statis dan dilakukan pengukuran berat BNC yang dihasilkan.

3.3.5.4 Variasi Sumber Nitrogen

Medium pertumbuhan dengan sumber C terbaik kemudian dilakukan variasi sumber nitrogen (N). Sebanyak 5% (v/v) kultur inokulum diinokulasikan ke dalam 50 mL media fermentasi HS-termodifikasi yang telah ditambahkan dengan variasi sumber nitrogen yaitu *beef extract*, NH_4Cl , NaNO_3 , dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ dengan konsentrasi 1% (w/v). Selanjutnya difermentasi selama 14 hari pada suhu ruang dalam kondisi statis dan dilakukan pengukuran berat BNC yang dihasilkan.

3.3.5.5 Variasi Sumber Fosfat

Medium pertumbuhan dengan sumber C dan sumber N terbaik kemudian dilakukan variasi sumber fosfat. Sebanyak 5% (v/v) kultur inokulum diinokulasikan ke dalam 50 mL media fermentasi HS-termodifikasi yang telah ditambahkan dengan variasi sumber fosfat yaitu KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , dan NaH_2PO_4

dengan konsentrasi 0.27% (w/v). Selanjutnya difermentasi selama 14 hari pada suhu ruang dalam kondisi statis dan dilakukan pengukuran berat BNC yang dihasilkan.

3.3.6 Pengukuran *Water Hold Capacity* (WHC) BNC

Pelikel BNC yang diperoleh diukur *water hold capacity* selulosanya. Pengukuran *water hold capacity* (WHC) dilakukan dengan cara mencuci pelikel BNC menggunakan akuades dan direndam dalam NaOH 0,1 M pada 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. Pelikel basah lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 48 jam, ditimbang hingga mencapai berat yang konstan dan dicatat sebagai berat kering. *Water hold capacity* (%w/w) BNC diukur berdasarkan berat yang hilang saat dikeringkan. Berdasarkan Persamaan 1:

$$\text{Water Hold Capacity (\%)} = \left(\frac{\text{berat basah} - \text{berat kering}}{\text{berat basah}} \right) \times 100\% \quad (1)$$

Pengukuran WHC pada pelikel BNC bertujuan untuk mengukur daya serapnya terhadap air. Pelikel BNC yang berkualitas baik apabila mengandung WHC lebih dari 85%.

3.3.7 Karakterisasi BNC

Karakterisasi BNC dilakukan dengan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM), dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Instrumen SEM digunakan untuk melihat ukuran nano pada morfologi permukaan pelikel BNC, sedangkan instrumen FTIR digunakan untuk membuktikan hasil yang diperoleh adalah selulosa berdasarkan hasil analisis gugus fungsi.

3.3.7.1 Scanning Electron Microscopy (SEM)

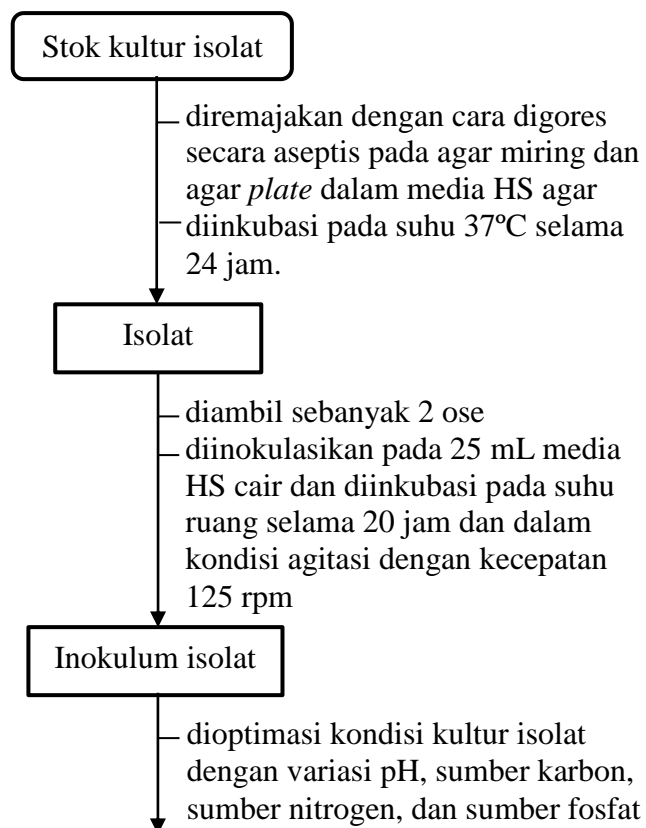
Sampel pelikel BNC dipotong kecil-kecil, dan dikeringkan hingga beratnya konstan. Sampel yang telah kering, lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk. Kemudian, unsur-unsur yang terkandung dalam BNC dianalisis dengan instrumen SEM.

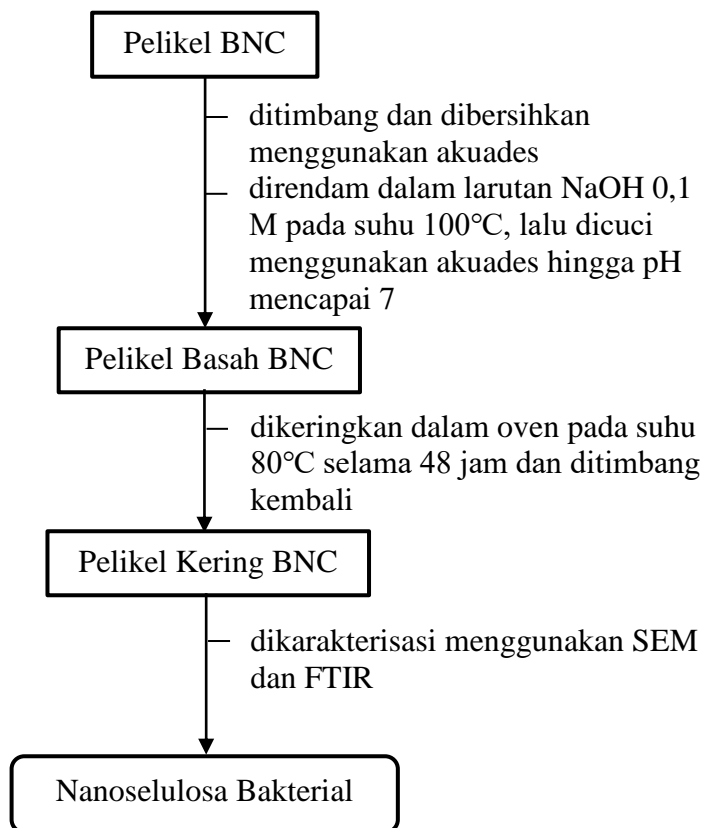
3.3.7.2 Fourier Transform Infrared (FTIR)

Pelikel BNC yang telah dikeringkan hingga beratnya konstan, selanjutnya dipotong kecil-kecil, lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk. Kemudian dianalisis menggunakan FTIR pada rentang spektrum $500 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$ pada suhu ruang.

3.4 Diagram Alir

Adapun diagram alir pada penelitian ini adalah sebagai berikut:





Gambar 5. Diagram Alir Penelitian.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

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

1. Produksi BNC oleh isolat Kc-D-4 optimum pada kondisi kultur dengan pH 4,5, menghasilkan pelikel basah BNC sebesar 12,1 g dengan waktu inkubasi selama 14 hari.
2. Pelikel BNC yang dihasilkan pada kondisi optimum menghasilkan WHC sebesar 97,38%.
3. Penambahan sumber C, N, dan P tidak meningkatkan produksi BNC oleh isolat Kc-D-4.
4. Pelikel BNC yang dihasilkan dari medium fermentasi dengan variasi pH, sumber karbon, sumber nitrogen, dan sumber fosfat menghasilkan WHC dengan jumlah rata-rata 97,37%.
5. Hasil analisis menggunakan SEM dan FTIR menunjukkan partikel BNC memiliki serat berukuran nano dengan diameter 52-92 nm, dan termasuk golongan selulosa.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, maka disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat memproduksi BNC menggunakan limbah cair industri lainnya, dan melakukan karakterisasi yang lebih detail dan spesifik melibatkan XRD dan TEM.

DAFTAR PUSTAKA

- Aramwit, P. and Bang, N. 2014. The Characteristics of Bacterial Nanocellulose Gel Releasing Silk Sericin for Facial Treatment. *BMC Biotechnology*. 14(1): 1–11.
- Ashrafi, Z., Lucia, L. and Krause, W. 2019. Bioengineering Tunable Porosity in Bacterial Nanocellulose Matrices. *Soft Matter*. 15(45): 9359–9367.
- Asthary, P.B., Sanningtyas, A. and Pertiwi, G.A. 2020. Optimasi Produksi Bacterial Nanocellulose dengan Metode Kultur Agitasi. *Jurnal Selulosa*. 10(2): 89–100.
- Baharuddin, M. *et al.* 2014. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Symbion Larva Kupu-Kupu *Cossus cossus* Penghasil Enzim Selulase. *Al-Kimia*. 2(2): 58–68.
- Boby, C.A., Muhsinin, S. dan Roni, A. 2021. Review: Produksi, Karakterisasi Dan Aplikasi Selulosa Bakteri Di Bidang Farmasi. *JOPS*. 4(2): 12–28.
- Charreau, H., L. Foresti, M. and Vazquez, A. 2013. Nanocellulose Patents Trends: A Comprehensive Review on Patents on Cellulose Nanocrystals, Microfibrillated and Bacterial Cellulose. *Recent Patents on Nanotechnology*. 7(1): 56–80.
- Chen, G. *et al.* 2018. Scale-up of production of bacterial nanocellulose using submerged cultivation. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 93(12): 3418–3427.
- Cielecka, I., Szustak, M. and Kalinowska, H. 2019. Glycerol-Plasticized Bacterial Nanocellulose-Based Composites with Enhanced Flexibility and Liquid Sorption Capacity. *Cellulose*. 26(9): 5409–5426.
- Dubey, S. *et al.* 2017. From Rotten Grapes to Industrial Exploitation: *Komagataeibacter Europaeus* SGP37, A Micro-Factory For Macroscale Production of Bacterial Nanocellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*. 96: 52–60.

- El-Naggar, N.E.A. *et al.* 2022. Exploration of A Novel and Efficient Source for Production of Bacterial Nanocellulose, Bioprocess Optimization and Characterization. *Scientific Reports*. 12(18533): 1–22.
- Fatriasari, W., Masruchin, N. dan Hermiati, E. 2019. *Selulosa: Karakteristik dan Pemanfaatannya*. LIPI Press. Jakarta.
- Gama, M., Dourado, F. and Bielecki, S. 2016. *Bacterial NanoCellulose From Biotechnology to Bio-Economy*. Elsevier. Amsterdam.
- Gao, H. *et al.* 2020. Comparison of Bacterial Nanocellulose Produced by Different Strains Under Static and Agitated Culture Conditions. *Carbohydrate Polymers*. 227(2019): 1–8.
- Gorgieva, S. and Trcek, J. 2019. Bacterial Cellulose : Production, Modification and Perspectives in Biomedical Applications. *Nanomaterials*. 9: 1–20.
- Hsieh, J. *et al.* 2016. A Novel Static Cultivation of Bacterial Cellulose Production. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 10: 1–6.
- Izabela, Cielecka, Ryngajłło, M. and Maniukiewicz, W. 2021. Highly Stretchable Bacterial Cellulose Produced by *Komagataeibacter hansenii* S11. *Polymers*. 13(4455): 1–23.
- Kargarzadeh, H. *et al.* 2017. Methods for Extraction of Nanocellulose from Various Sources. *Nanocellulose and Cellulose Nanocomposites*. 1: 1–49.
- Mohite, B. V., Salunke, B.K. and Patil, S. V. 2013. Enhanced Production of Bacterial Cellulose by Using *Gluconacetobacter Hansenii* NCIM 2529 Strain Under Shaking Conditions. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 169(5): 1497–1511.
- Ningtyas, K.R., Muslihudin, M. dan Sari, I.N. 2020. Sintesis Nanoselulosa dari Limbah Hasil Pertanian dengan Menggunakan Variasi Konsentrasi Asam. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*. 20(2): 142–147.
- Nurbaiti. 2022. Produksi Bacterial Nanocellulose (BNC) dari Limbah Nanas Oleh *Mikroba Isolat Lokal Kc-D-4*. *Skripsi*. Universitas Lampung.
- Nurung, A.H. *et al.* 2021. Optimization of Temperature Cellulose Producing Bacterial Isolates from Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*). *Journal Microbiology Science*. 1(1): 42–48.
- Park, M.S. *et al.* 2019. Cellulosic Nanomaterial Production Via Fermentation by *Komagataeibacter* sp. SFCB22-18 Isolated from Ripened Persimmons. *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 29(4): 617–624.

- Phanthong, P. *et al.* 2018. Nanocellulose: Extraction and Application. *Carbon Resources Conversion*. 1(1): 32–43.
- Rahma, H. dan 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. 1–15.
- Rianita, Y., Chomsin S. Widodo dan Masruroh. 2014. Studi Identifikasi Komposisi Obat dan Limbah Balur Benzoquinon (BQ) Hasil Terapi Pembaluran dengan Scanning ELectrone Microscopy (SEM). *Brawijaya Physics Student Journal*. 2(1): 1–4.
- Ruan, C. *et al.* 2016. Effect of Cellulose Crystallinity on Bacterial Cellulose Assembly. *Cellulose*.
- Sijabat, E.K. *et al.* 2020. Optimization on The Synthesis of Bacterial Nano Cellulose (BNC) From Banana Peel Waste for Water Filter Membrane Applications. *Materials Research Express*. 7(5): 1–10.
- Singh, O., Panesar, P.S. and Chopra, H.K. 2017. Isolation and Characterization of Cellulose Producing Bacterial Strain from Orange Pulp. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. 14(1): 373–380.
- Siregar, Y.D.I. *et al.* 2015. Karakterisasi Karbon Aktif Asal Tumbuhan dan Tulang Hewan Menggunakan FTIR dan Analisis Kemometrika. *Jurnal KImia Valensi*. 1(2): 103–116.
- Thaiyibah, N. dan Panggabean, A.S. 2016. Pembuatan dan Karakterisasi Membran Selulosa Asetat-PVC dari Eceng Gondok (*Eichhornia Crassipes*) untuk Adsorpsi Logam Tembaga (II). 14(November): 29–35.
- Tsouko, E. *et al.* 2015. Bacterial Cellulose Production From Industrial Waste and By-Product Streams. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(7): 14832–14849.
- Ullah, M.W., Manan, S. and Kiprono, S.J. 2019. *Synthesis, Structure, and Properties of Bacterial Cellulose*. Wiley-VCH. German.
- Wang, S.S. *et al.* 2018. Insights Into Bacterial Cellulose Biosynthesis from Different Carbon Sources and The Associated Biochemical Transformation Pathways In *Komagataeibacter* sp. W1. *Polymers*. 10(9): 1–20.
- Wardhani, A.K., Uktolseja, J.L., dan Djohan. 2020. Identifikasi Morfologi Dan Pertumbuhan Bakteri Pada Cairan Terfermentasi Silase Pakan Ikan. *SNPBS*. 5(1): 411–419.
- Wibowo, N.A. 2015. Potensi In-Vivo Selulosa Bakterial Sebagai Nano-Filler Karet Elastomer Thermoplastics (ETPS). *Perspektif*. 14(2): 103–112.