

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL *BACTERIAL NANOCELLULOSE*
(BNC) DARI BUAH-BUAHAN BUSUK DAN KONSORSIUM KULTUR
KOMBUCHA SERTA UJI PRODUKSI BNC DARI LIMBAH CAIR
NANAS**

(Skripsi)

Oleh

**AGNES MARDIANA HAREFA
NPM 2117011103**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

ABSTRAK

ISOLASI MIKROBA PENGHASIL *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI BUAH-BUAHAN BUSUK DAN KONSORSIUM KULTUR KOMBUCHA SERTA UJI PRODUKSI BNC DARI LIMBAH CAIR NANAS

Oleh

Agnes Mardiana Harefa

Bacterial Nanocellulose (BNC) adalah biopolimer alami yang dihasilkan oleh bakteri dan memiliki karakteristik unggul, termasuk efisiensi mekanik tinggi, kualitas udara yang baik, dan biokompatibilitas tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi produksi BNC dengan menggunakan isolat tunggal dan konsorsium kombucha. Fermentasi dilakukan dengan variasi brix dan variasi waktu. Kultur kombucha memberikan hasil produk pelikel BNC yang terbaik diperoleh pada brix 8% sebesar 190 g/L selama 14 hari fermentasi dan memiliki nilai WHC sebesar 93,33%. Konsumsi substrat pada medium HS-T variasi brix 8% tercatat sebesar 40% dan berhasil dikonversi menjadi BNC sebesar 62,5%. Hasil analisis pelikel BNC menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) memiliki gugus fungsi ciri khas sebagai material selulosa dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) menunjukkan serat memiliki ukuran nano. Temuan ini mendukung potensi kultur kombucha sebagai sumber inokulan efektif dalam produksi BNC dengan kualitas yang baik untuk aplikasi lebih lanjut.

Kata kunci: *bacterial nanocellulose* (BNC), limbah cair nanas, kultur kombucha, isolasi mikroba, selulosa bakteri.

ABSTRACT

ISOLATION OF MICROORGANISMS PRODUCING BACTERIAL NANOCELLULOSE (BNC) FROM ROTTEN FRUITS AND KOMBUCHA CULTURE CONSORTIUM, AND TESTING OF BNC PRODUCTION FROM PINEAPPLE LIQUID WASTE

By

Agnes Mardiana Harefa

Bacterial Nanocellulose (BNC) is a natural biopolymer produced by bacteria and has superior characteristics, including high mechanical efficiency, good air quality, and high biocompatibility. This study aims to evaluate BNC production using single isolates and kombucha consortia. Fermentation was carried out with variations in brix and time. Kombucha culture produced the best BNC pellicle product at 8% brix, yielding 190 g/L during 14 days of fermentation and having a WHC value of 93.33%. Substrate consumption in the HS-T medium at 8% brix was recorded at 40% and was successfully converted into 62.5% BNC. Analysis of the BNC pellicle using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) revealed characteristic functional groups typical of cellulose material, while Scanning Electron Microscopy (SEM) showed that the fibers had a nano-scale size. These findings support the potential of kombucha culture as an effective inoculum source for producing high-quality BNC for further applications.

Keywords: *bacterial nanocellulose* (BNC), pineapple liquid waste, kombucha culture, microbial isolation, bacterial cellulose.

**ISOLASI MIKROBA PENGHASIL *BACTERIAL*
NANOCELLULOSE (BNC) DARI BUAH-BUAHAN BUSUK DAN
KONSORSIUM KULTUR KOMBUCHA SERTA UJI PRODUKSI
BNC DARI LIMBAH CAIR NANAS**

Oleh

Agnes Mardiana Harefa

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2025**

Judul Skripsi : ISOLASI MIKROBA PENGHASIL
BACTERIAL NANOCELLULOSE (BNC)
DARI BUAH-BUAHAN BUSUK DAN
KONSORSIUM KULTUR KOMBUCHA
SERTA UJI PRODUKSI BNC DARI
LIMBAH CAIR NANAS

Nama Mahasiswa : Agnes Mardiana Harefa
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011103
Jurusan/Program Studi : Kimia/S1
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Pembimbing I

Mulyono, Ph.D.

NIP. 197406112000031002

Pembimbing II

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197108062000032001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila

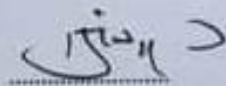
Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si.

NIP. 197205302000032001

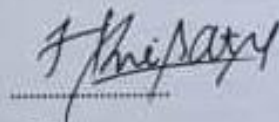
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

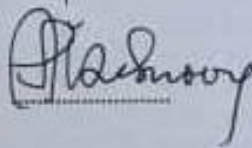
Ketua : Mulyono, Ph.D.



Sekretaris : Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.



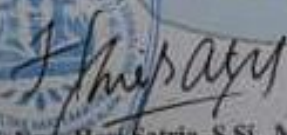
Anggota : Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197108062000032001



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 10 Oktober 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Agnes Mardiana Harefa
NPM : 2117011103
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi saya yang berjudul:
"ISOLASI MIKROBA PENGHASIL *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI BUAH-BUAHAN BUSUK DAN KONSORSIUM KULTUR KOMBUCHA SERTA UJI PRODUKSI BNC DARI LIMBAH CAIR NANAS"
adalah benar-benar hasil karya saya sendiri. Seluruh isi, data dalam skripsi ini merupakan hasil pemikiran, penelitian, dan penulisan saya sendiri, kecuali bagian-bagian yang secara jelas dirujuk sumbernya. Saya juga menyatakan tidak keberatan apabila skripsi ini digunakan oleh dosen pembimbing maupun pihak universitas untuk kepentingan akademik, penelitian, dan publikasi ilmiah, selama penggunaannya sesuai dengan ketentuan yang berlaku dan berdasarkan kesepakatan bersama.

Demikian Pernyataan keaslian dan persetujuan publikasi karya ilmiah yang saya buat dengan sebenar-benarnya.

Bandar Lampung, 16 Oktober 2025

t Pernyataan

 Agnes Mardiana Harefa

NPM. 2117011103

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kecamatan Tanjung Morawa Kabupaten Deli Serdang Provinsi Sumatera Utara, pada tanggal 05 April 2002 sebagai anak pertama dari empat bersaudara dari Bapak Kabuyu Harefa dan Ibu Didari Tediel Zendrato.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri 105855 PTPN II Tanjung Morawa pada 2008-2014. Selanjutnya penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 4 Tanjung Morawa tahun 2014-2017 dan melanjutkan ke jenjang pendidikan menengah atas di SMAS Santa Lusia Sei Rotan pada tahun 2017-2020.

Pada tahun 2021 penulis resmi terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN). Selama menjadi mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam penulis aktif berorganisasi di dalam kampus sebagai Biro Komunikasi Informasi di UKM Katolik Unila maupun di luar kampus sebagai Wakil Sekretaris Jenderal di Perhimpunan Mahasiswa Katolik Republik Indonesia (PMKRI). Penulis juga aktif menjadi salah satu asisten praktikum Biokimia I pada Tahun Ajaran 2024/2025.

Selama masa perkuliahan penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) pada tanggal selama 40 hari di Balai Standarisasi Pelayanan dan Jasa Industri (BSPJI). Laporan PKL yang dibuat penulis berjudul “Verifikasi Metode pengujian Warna Sesuai Dengan SNI 3553:2015 Pada Sampel Air Minum Dalam Kemasan (AMDK)”.

Pada Januari penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) dan mengikuti Program Kompetisi Kampus Merdeka (PKKM) “Membangun Desa” selama 40 hari di Desa Rejomulyo Kecamatan Lampung Selatan Kota Bandar Lampung.

Motto

Apapun juga yang kamu perbuat, perbuatlah dengan segenap hatimu seperti untuk Tuhan dan bukan untuk manusia.

(Kolose 2:23)

“ Go your own way, even if you live for a day.”

(BTS, No More Dream)

Di ujung pembusukan, ada awal penciptaan;
di balik limbah, tersembunyi harapan.

-BNC-

Yaahowu Maria, safonu karasi soaya zifao khu, nisuno ndra uge moroi bagotalua ndra alawe ba nisuno gei daminau andre yesu. Hemaria Niamonio ina Lowalangi ang andro salahima ya aga siso hore iya daa bairugi zileatu. Amin.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Karya sederhana ini kupersembahkan kepada Tuhan Yesus Kristus, sumber kekuatan dan pengharapan dalam setiap langkahku. Juga kepada Bunda Maria, yang senantiasa mendampingi dalam doa dan kasih keibuannya.

Keluarga tercinta,
Kepada Mamak, Bapak, serta ketiga adikku tersayang, terima kasih atas doa, cinta, dan semangat yang tak pernah putus selama penulis menempuh pendidikan di Lampung. Walaupun jarak memisahkan kita, kasih sayang kalian selalu terasa dekat di hati. Penulis bersyukur dan bangga terlahir dan tumbuh dalam keluarga Harefa- Zendrato, tempat cinta dan dukungan tak pernah surut.

Dengan rasa hormat,
Bapak Mulyono, Ph.D. | Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
| Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.
serta para dosen Kimia atas segala bimbingan dan ilmu yang telah diberikan.

Seluruh sahabat dan teman-temanku yang senantiasa mendukung dan memberikan semangat untuk penulis.

Untuk diriku Agnes Mardiana Harefa, terima kasih telah bertahan sejauh ini, meski tak selalu mudah tapi aku bangga karena terus mencoba.

serta

ALMAMATERKU TERCINTA

SANWACANA

Puji syukur yang tak terhingga penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus dan Bunda Maria yang senantiasa menyertai penulis dengan kasih yang tak pernah putus. Dalam setiap proses, dalam setiap tangis dan tawa, dalam setiap malam panjang yang penuh perjuangan, kasih-Mu selalu menjadi pelita yang menuntun penulis hingga akhirnya skripsi ini dapat diselesaikan dengan judul **“Isolasi Mikroba Penghasil *Bacterial Nanocellulose* (BNC) Dari Buah-Buahan Busuk Dan Konsorsium Kultur Kombucha Serta Uji Produksi BNC Dari Limbah Cair Nanas”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains di Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa dalam proses penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Penyusunan skripsi ini tak luput dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Eng Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
2. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
3. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Dosen Pembimbing I, terima kasih atas kesabaran, arahan, dan ketegasan yang telah membentuk kedewasaanku dalam berpikir ilmiah.

4. Bapak Dr. Eng Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing II, terima kasih telah memberikan banyak bimbingan, arahan, dan masukan berharga selama proses penelitian ini berlangsung.
5. Ibu Prof Dr. Noviany, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembahas, terima kasih atas kritik dan masukan yang membangun sehingga karya ini menjadi lebih matang dan bertanggung jawab secara akademik.
6. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, M.Si., DR., S.Si., M.Si., selaku Dosen Akademik yang selalu memberikan bimbingan dengan hati seorang ibu, tidak hanya dalam akademik tapi juga dalam kehidupan.
7. Seluruh Dosen Kimia dan jajarannya, mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada seluruh dosen Program Studi Kimia FMIPA UNILA atas ilmu, bimbingan, dan motivasi yang telah diberikan selama masa studi.
8. Keluargaku Harefa-Zendrato tercinta, terima kasih yang tak terhingga atas segala doa, dukungan, dan cinta yang kalian berikan selama ini. Dalam setiap langkah yang kuambil, aku selalu merasa disertai oleh restu dan semangat dari rumah. Kalian adalah sumber kekuatanku, tempat aku kembali, dan alasan terbesar aku terus berjuang. Segala pencapaian ini adalah berkat kalian. Terima kasih sudah menjadi pelabuhan teraman dalam hidupku.
9. Teman-teman seperjuangan tim Penelitian PM 21, terima kasih atas kerja keras, kebersamaan, dan semangat kolaboratif yang luar biasa. Perjalanan kita tentu tidak mudah, penuh dinamika, namun justru di sanalah letak kekuatannya. Kita belajar, tumbuh, dan menyelesaikan tantangan bersama. Terima kasih sudah menjadi rekan sekaligus teman berbagi suka duka dalam proses ini. Semoga keberhasilan ini menjadi kenangan manis dan pijakan untuk langkah kita selanjutnya.
10. Greats Mates, Maria Angelina Hutagalung dan Martina Widia Br. Nainggolan, terima kasih sampai sejauh ini kita telah berteman selama diperkuliahan, kalian bukan teman/sahabat melainkan keluargaku. Atas tawa suka duka sudah kita lewati bersama.
11. Kakak-Kakak PM 20 telah mendampingi dan membimbing kami, terima kasih atas segala perhatian, arahan, dan waktunya. Kehadiran kalian menjadi cahaya

- dalam proses kami mencari arah. Terima kasih telah menjadi teladan dalam hal keilmuan. Untuk PM 22, semangat untuk penelitiannya jangan mudah menyerah.
12. Teman Penelitian Biokimia yang selalu mendukung satu sama lain.
 13. Kimia Angkatan 21, terima kasih atas kebersamaan selama di perkuliahan.
 14. Teman-teman PMKRI, terima kasih atas persaudaraannya.
 15. Erni, Yohanita, Naomi dan Lupita, terima kasih sudah mengenalkan kopi kepada penulis, atas penyemangat juga.
 16. Kekasihku, sudah menemani perjalanan ini dengan kasih dan penuh cinta.
 17. Dan untuk orang-orang yang tak bisa saya sebutkan satu per satu, mungkin kalian hadir hanya sebentar, mungkin kalian tidak menyadari betapa besar dampaknya, tapi kehadiran kalian meninggalkan jejak. Terima kasih karena telah menjadi bagian dari cerita saya, meski hanya sepotong halaman.
 18. Last but not least, terima kasih untuk diri sendiri Agnes Mardiana Harefa, sudah berjuang sejauh ini. Anak pertama yang keras kepala, mudah putus asa, banyak ragunya, dan takutnya. Terima kasih sudah berjuang dan menjadi lebih baik dari kemarin. Meski harus menghadapi kegagalan, kebingungan, bahkan perasaan ingin menyerah. Terima kasih karena tetap jujur pada rasa takut, namun tidak membiarkan rasa takut itu membatasi langkah, terima kasih karena sudah berani memilih, memilih untuk mencoba, memilih untuk belajar, dan memilih untuk menyelesaikan apa yang telah kamu mulai. Skripsi ini tidak sempurna, tapi cukup untuk membuat saya wisuda dan mendapatkan gelar S.Si.

Bandar Lampung, 16 Oktober 2025

Penulis

Agnes Mardiana Harefa

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	4
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Nanas	5
2.1.1. Defenisi Nanas	5
2.1.2. Karakteristik Nanas	5
2.1.3. Limbah Cair Nanas.....	6
2.2. Selulosa	8
2.2.1. Defenisi Selulosa.....	8
2.2.2. Struktur Selulosa	9
2.2.3. Sifat Selulosa.....	9
2.2.4. Perbedaan Selulosa Tumbuhan dan Selulosa Bakteri	10
2.3. <i>Nanocellulose</i>	11
2.4. <i>Bacterial Nanocellulose</i> (BNC)	11
2.4.1. Defenisi <i>Bacterial Nanocellulose</i>	11
2.4.2. Produksi <i>Bacterial Nanocellulose</i>	12
2.4.3. Proses Sintesis <i>Bacterial Nanocellulose</i>	12
2.4.4. Isolasi Mikroba dari Sumber Alami	13
2.4.5. Metode Isolasi	13
2.4.6. Optimasi Produksi BNC dari Mikroba Isolat.....	13
2.5. Karakterisasi BNC.....	14
2.5.1. <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM)	14
2.5.2. FTIR (<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>).....	15

III. METODE PERCOBAAN	17
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2. Alat dan Bahan	17
3.3. Prosedur Penelitian.....	17
3.3.1. Tahap Persiapan Alat	17
3.3.2. Tahap Pembuatan Media.....	18
3.3.3. Isolasi Mikroba dari Buah Busuk.....	19
3.3.4. Skrining Bakteri Penghasil Selulosa	19
3.3.5. Uji Aktifitas Bakteri.....	20
3.3.6. Inokulasi	21
3.3.7. Produksi <i>Bacterial Nanocellulose</i>	21
3.3.8. Produksi BNC oleh Kultur Kombucha	21
3.3.9. Pengukuran <i>Water Hold Capacity</i> (WHC) BNC	21
3.3.10. Perhitungan Efisiensi Produksi BNC	22
3.3.11. Karakteristik <i>Bacterial Nanocellulose</i>	22
3.4 Diagram Alir.....	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
4.1. Isolasi dan Skrining Bakteri	24
4.1.1. Isolasi Mikroba dari Buah Busuk.....	24
4.1.2. Skrining Bakteri Penghasil Selulosa	25
4.2. Evaluasi Produksi BNC.....	27
4.3. Produksi BNC oleh Kultur Kombucha.....	29
4.4. Water Hold Capacity (WHC) Pelikel BNC.....	33
4.5. Efisiensi BNC.....	35
4.6. Karakteristik BNC.....	36
4.6.1. Spektrum IR BNC	36
4.6.1. Morfologi SEM	38
V. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1. Kesimpulan.....	40
5.2. Saran.....	40
DAFTAR PUSTAKA	41

DAFTAR GAMBAR

Tabel	Halaman
1. Buah Nanas Berbagai Verietas a) Cayyene, b) Queen, c) Spanish, dan d) Abacaxi.....	6
2. Polimer Glukosa dengan Ikatan β -1,4 Glikosidik dalam Rantai Linear.....	9
3. Mikrograf SEM dari BNC	15
4. Diagram Alir Penelitian.....	23
5. Hasil <i>Spread plate</i> dengan Waktu Inkubasi 48 Jam. a) Isolat Nanas, b) Isolat Apel dan c) Isolat Pisang	25
6. Isolat Buah Busuk Nanas pada Media Agar. a) Cawan Petri dan b) Agar Miring	26
7. Hasil Uji Pada Media GEY	26
8. Isolat NS-P4-1 Ditumbuhkan pada Media Cair.....	27
9. Hasil Fermentasi Selama 14 Hari Menggunakan Isolat NS-P4-1	28
10. Pelikel BNC Hasil Fermentasi Hari Ke-3 Pada Variasi Brix Pertama. a) brix 3%, b) brix 8%, c) brix 12%, d) brix 18% dan e) HS Standar	29
11. Pelikel BNC Hasil Fermentasi Hari Ke-6 Pada Variasi Brix Pertama. (a) brix 3%, b) brix 8%, c) brix 12%, d) brix 18% dan e) HS Standar	30
12. Pelikel BNC Hasil Fermentasi Hari Ke-9 Pada Variasi Brix Pertama. (a) brix 3%, b) brix 8%, c) brix 12%, d) brix 18% dan e) HS Standar	30
13. Pelikel BNC Hasil Fermentasi Hari Ke-14 Pada Variasi Brix Pertama. (a) brix 3%, b) brix 8%, c) brix 12%, d) brix 18% dan e) HS Standar	31
14. Pelikel BNC Hasil Fermentasi Hari Ke-14 Pada Variasi Brix Kedua. (a) brix 7%, b) brix 8%, c) brix 9% dan d) HS Standar	32
15. Hasil Pelikel Kering BNC, a) 7%, b) 8% dan c) 9%.....	35
16. Hasil Spektrum IR BNC.....	37
17. Morfologi Permukaan BNC. a) 5 K X dan b) 20 K X.....	38

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan Asam Organik Limbah Nanas.....	8
2. Perbedaan Selulosa Tumbuhan dan Bakteri.....	10
3. Perbandingan Berat Pelikel BNC Pada Medium HS-Standar dan HS-T dengan Variasi Brix Pertama	31
4. Perbandingan Berat Pelikel BNC Pada Medium HS-Standar dan HS-T dengan Variasi Brix Kedua	33
5. Nilai WHC Pelikel BNC	34
6. Efisiensi Produksi BNC.....	36
7. Vibrasi Ikatan BNC	37

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Selulosa merupakan salah satu makromolekul biologis yang paling melimpah di alam, berperan sebagai komponen utama dalam dinding sel tumbuhan, dan juga dapat ditemukan pada alga dan bakteri (Morgan *et al.*, 2013). Selulosa yang dihasilkan oleh bakteri dikenal sebagai selulosa bakteri *Bacterial cellulose* (BC), memiliki sejumlah kelebihan dibandingkan selulosa yang berasal dari tumbuhan *Plant cellulose* (PC). Beberapa keunggulan BC dibandingkan PC meliputi tingkat kemurnian yang lebih tinggi karena PC masih mengandung lignin, pektin, dan hemiselulosa, serta BC memiliki porositas yang lebih besar dan lebih mudah terdegradasi (Naomi *et al.*, 2020).

Bacterial cellulose (BC) adalah polisakarida ekstraseluler yang diproduksi oleh beberapa bakteri dari genus *Gluconacetobacter*, *Agrobacter*, dan *Sarcina*. Selulosa ini terbentuk sebagai membran basah yang mengandung sekitar 99% air di permukaan media kultur. BC memiliki tingkat kemurnian yang tinggi, daya serap air yang baik, dan sifat mekanik serta permeabilitas yang unik, serta tahan terhadap degradasi. Keunikan ini berasal dari struktur nanofibrilar tiga dimensi yang membentuk jaringan BC karena sifat-sifat tersebut serta biokompatibilitasnya, BC telah menarik banyak minat di berbagai bidang terutama dalam bidang biomedis, seperti penggunaan dalam pembalut luka bakar dan sebagai bahan pembuat pembuluh darah buatan untuk keperluan bedah mikro (Gallegos *et al.*, 2016). BC memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan selulosa tumbuhan, diantaranya struktur serat berukuran nano yang sangat tipis (Novikov, *et al.*, 2021). Salah satu jenis BC yang banyak diminati adalah *nanocellulose* yang berasal dari bakteri atau biasa disebut dengan *Bacterial Nanocellulose* (BNC).

BNC adalah polimer alami yang dihasilkan oleh mikroorganisme terutama bakteri melalui proses biosintesis. BNC memiliki sifat-sifat unik, seperti kekuatan mekanik yang tinggi, porositas yang baik, biokompatibilitas, serta kemampuan menyerap air yang besar. Karena karakteristiknya, BNC memiliki potensi untuk diterapkan dalam berbagai industri, termasuk farmasi, makanan, tekstil, dan biomedis. Dengan semakin meningkatnya kebutuhan akan bahan yang ramah lingkungan, produksi BNC menjadi topik yang menarik untuk dikembangkan sebagai material alternatif yang lebih berkelanjutan (Samyn, *et al.*, 2023).

Sumber mikroba untuk produksi BNC bisa didapatkan dari berbagai bahan organik, salah satunya adalah buah-buahan yang sudah membusuk. Buah busuk mengandung mikroba yang mampu memfermentasi substrat organik dan menghasilkan berbagai produk metabolik, termasuk *nanocellulose*. Biasanya, buah-buahan yang membusuk tidak dimanfaatkan dengan baik sehingga hanya menjadi sumber pencemaran lingkungan. Faktanya, buah busuk tersebut berpotensi menjadi sumber mikroba penghasil BNC yang ekonomis dan berkelanjutan (Ross *et al.*, 1991).

Selain bakteri tunggal, konsorsium mikroba seperti kultur kombucha juga terbukti mampu menghasilkan BNC. Kombucha merupakan fermentasi simbiotik antara bakteri asam asetat dan ragi yang membentuk lapisan biofilm nanocellulose pada permukaan medium. (Goh *et al.*, 2012) melaporkan bahwa kultur kombucha dapat memproduksi BNC dengan mutu dan jumlah yang kompetitif serta lebih stabil berkat interaksi mikroba di dalamnya. Oleh karena itu, kultur kombucha dapat dijadikan alternatif sumber mikroba dalam produksi BNC.

Produksi BNC tidak hanya bergantung pada kemampuan strain bakteri untuk menghasilkan BNC tetapi juga dipengaruhi oleh media fermentasi yang digunakan. Dalam memilih media fermentasi selain kandungan nutrisinya biaya media fermentasi juga perlu dipertimbangkan terutama jika diperlukan media yang murah dan mudah diperoleh secara berkelanjutan. Penggunaan glukosa sebagai sumber karbon dalam medium *Hestrin Schramm* (HS) menjadi kurang efisien saat ini karena tingginya biaya (Sarkono *et al.*, 2012). Oleh karena itu,

penting untuk mencari sumber karbon alternatif dalam produksi BNC, salah satu bahan limbah yang bisa dimanfaatkan sebagai sumber karbon alternatif adalah limbah cair nanas.

Limbah cair nanas memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai media tanam yang baik bagi pertumbuhan tanaman karena limbah cair nanas mengandung komponen-komponen yang bermanfaat seperti glukosa, fruktosa, sukrosa. Selain itu, limbah cair nanas juga memiliki rata-rata derajat keasaman (pH) yang relatif tinggi, yaitu sekitar 3,44 (Handayani *and* Sutanto, 2016). Saat ini, limbah cair nanas belum dimanfaatkan secara optimal yang berpotensi mencemari lingkungan. Salah satu cara pemanfaatannya adalah dengan menggunakan limbah cair nanas sebagai sumber glukosa alami dalam produksi BNC melalui fermentasi dengan bantuan bakteri (Kusuma *et al.*, 2019).

Di Laboratorium Biokimia FMIPA Unila telah diperoleh isolat bakteri dengan kode Kc-T-1 yang diisolasi dari kombucha asal Tangerang. Isolat tersebut berhasil memproduksi berat kering BNC sebesar 10 g/L dengan kondisi optimum produksi BNC ditunjukkan pada kondisi statis pada variasi konsentrasi medium molase sebesar 6% Brix dengan masa inkubasi selama 14 hari, namun hasil yang diperoleh terhitung masih kecil. Oleh karena itu, perlu dicari sumber mikroba lain yang dapat memproduksi BNC (Azizah, 2022).

Berdasarkan uraian diatas, maka penelitian ini ditujukan untuk mengisolasi mikroba penghasil BNC dari buah-buahan busuk dan konsorsium kultur kombucha serta menguji kemampuan mikroba tersebut dalam memproduksi BNC menggunakan limbah cair nanas sebagai pengganti glukosa komersial. Dengan demikian, diharapkan penelitian ini dapat memperoleh isolat bakteri yang mampu memproduksi BNC dengan memanfaatkan limbah cair nanas, dibandingkan isolat yang sudah ada saat ini.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini sebagai berikut:

1. Menguji potensi produksi BNC dari mikroba yang diisolasi dengan menggunakan limbah cair nanas sebagai substrat.
2. Memperoleh kondisi optimum produksi BNC berupa pelikel pada kultur.
3. Menganalisis pengaruh variasi konsentrasi gula (brix) terhadap pertumbuhan pelikel dan produktivitas BNC menggunakan kultur kombucha.

1.3. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan memberikan solusi pemanfaatan limbah buah-buahan, khususnya limbah nanas, sebagai substrat yang ramah lingkungan untuk produksi BNC.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Nanas

2.1.1. Defenisi Nanas

Nanas (*Ananas comosus L.*) merupakan salah satu tanaman yang sangat disukai karena rasanya yang menyegarkan, lezat, dan sedikit asam. Tanaman ini berasal dari Amerika Selatan, khususnya Brasil, Argentina, dan Paraguay, dari sana kemudian menyebar ke berbagai wilayah tropis di seluruh dunia. Di Indonesia, nanas awalnya dibudidayakan di kebun rumah namun sejak itu telah berkembang menjadi komoditas penting baik di kebun maupun pertanian lahan kering (Tamsar *et al.*, 2022). Meskipun bukan tanaman asli Indonesia, budidaya nanas relatif mudah di banyak daerah pedesaan, sehingga menghasilkan produktivitas yang sangat tinggi. Menurut data statistik, Lampung merupakan daerah penghasil nanas terbesar di Indonesia, yaitu sebesar 32,77% dari total produksi, diikuti oleh Sumatera Utara (12,78%), Jawa Barat (10,39%), Jawa Timur (8,92%), Jambi (8,23%), Jawa Tengah (6,96%), dan daerah lain yang secara kolektif berkontribusi 19,95% terhadap keseluruhan produksi (Kementan, 2016).

2.1.2. Karakteristik Nanas

Klasifikasi ilmiah atau taksonomi dari nanas adalah sebagai berikut: Tanaman nanas dalam sistematika diklasifikasikan sebagai berikut: Kingdom: *Plantae*, Divisi: *Spermatophyta*, Class: *Angiospermae*, Family: *Bromoliaceae*, Genus: *Ananas*, Species: *Ananas comosus L. Merr.* Menurut (Arifudin, 2020) terdapat

empat kelompok nanas yang dibedakan berdasarkan bentuk daun dan buahnya yaitu 1) Kelompok *Cayenne* ditandai dengan daun yang halus, beberapa di antaranya berduri sementara yang lain tidak; buahnya besar, silindris, dan bermata agak datar, berwarna hijau kekuningan, dan memiliki rasa agak asam. 2) Kelompok *Queen* dikenal dengan daunnya yang pendek dan berduri tajam, dan buahnya berbentuk lonjong menyerupai kerucut atau silinder, dengan mata menonjol; buah ini berwarna kuning kemerahan dan rasanya manis. 3) Kelompok *Spanish* dikenali dari daunnya yang kecil dan memanjang serta duri yang halus hingga kasar, menghasilkan buah bulat dengan mata datar. 4) Kelompok *Abacaxi* dibedakan dengan daun yang panjang, berduri kasar, dan menghasilkan buah yang berbentuk silindris atau seperti piramida. Di Indonesia, varietas nanas yang paling umum dibudidayakan adalah kelompok *Cayenne* dan *Queen*, sedangkan kelompok *Spanish* terutama dikembangkan di Kepulauan Hindia Barat, Puerto Riko, Meksiko, dan Malaysia. Kelompok *Abacaxi* sebagian besar dibudidayakan di Brasil. Varietas nanas tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Buah Nanas Berbagai Varietas (a). *Cayenne*, (b). *Queen*, (c). *Spanish*, dan (d). *Abacaxi* (Nurbaiti, 2022).

2.1.3. Limbah Cair Nanas

Limbah cair nanas mengandung berbagai senyawa organik dan anorganik, seperti gula, asam organik, pektin, selulosa, lignin, serta mineral. Gula-gula yang dominan dalam limbah ini meliputi sukrosa, glukosa, dan fruktosa, yang menjadikannya substrat yang cocok untuk fermentasi mikroba. Selain itu, limbah ini juga mengandung asam sitrat dan enzim bromelain yang merupakan enzim

proteolitik yang banyak dimanfaatkan di industri pangan dan farmasi.

Berdasarkan penelitian Jasso *et al.*, (2011), limbah cair nanas memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon dalam fermentasi mikroba. Hal ini memungkinkan limbah tersebut digunakan untuk memproduksi etanol, enzim, serta biopolimer seperti bakteri nanocellulose (BNC), sehingga memiliki potensi besar untuk dikembangkan dalam berbagai aplikasi bioteknologi.

Limbah ampas nanas murah dan ampas kulit nanas mengandung serat 20,87%, karbohidrat 17,53%, protein 4,41%, gula reduksi 13,65%, dan air 72%. Hasil penerapannya mampu menghasilkan selulosa bakterial berat kering sebanyak 3,3948 gram dengan konsentrasi 80%. Perawatan Starrer Kecepatan Tinggi (HSB) menghasilkan struktur pasir yang lebih berpori. Perlakuan mekanis dapat menurunkan kristalinitas dan kekuatan selulosa bakteri yang dihasilkan. Nanas memiliki pH antara 2 sampai 4, mengandung bromelain dan protease, sehingga jika limbah ini dibuang maka akan merusak tanah dan menurunkan produktivitas tanah. Kandungan pH yang diatas 6 disebabkan oleh tingginya kandungan asam karbonat pada nanas (Susanto *and* Suarsini, 2011). Kandungan asam organik limbah nanas dapat dilihat pada Tabel 1.

Limbah cair nanas memiliki potensi sebagai media fermentasi untuk produksi BNC, sebuah biopolimer yang dihasilkan oleh bakteri seperti *Acetobacter xylinum*. BNC memiliki keunggulan dalam hal sifat mekaniknya, biokompatibilitas, dan dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi industri, termasuk sebagai bahan pembungkus makanan, *scaffold* untuk rekayasa jaringan, serta komponen medis. Menurut Keshk (2014), limbah cair nanas bisa menjadi media yang efektif dan ekonomis untuk memproduksi BNC, memberikan nilai tambah pada limbah organik ini serta membantu menekan biaya produksi biopolimer.

Tabel 1. Kandungan Asam Organik Limbah Nanas

Asam Organik	Satuan (ppm)
Asam Sitrat	400,0
Asam Sukinat	161,0
Asam Fosfat	23,00
Asam Oksalat	13,80
Asam Glutamat	13,00
Asam Laktat	9,000
Asam Sulfat	4,400
Asam Isoklinat	4,000
Asam Format	3,000
Asam Malonat	3,000
Asam klorida	2,000
Asam Propionat	1,900
Asam Asetat	0,500
Asam Nitrat	0,100

Sumber: (Susanto *and* Suarsini, 2011).

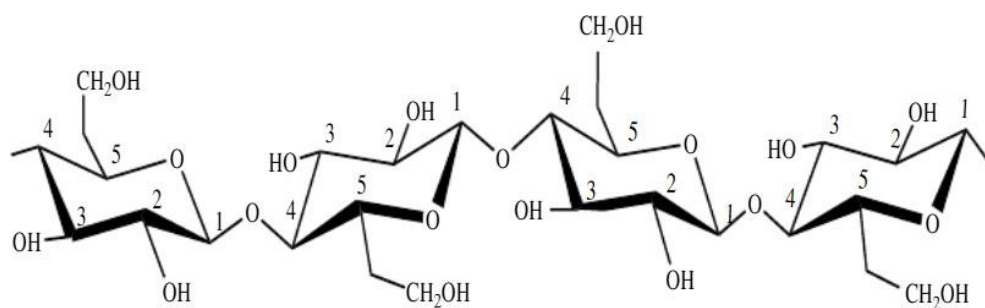
2.2. Selulosa

2.2.1. Defenisi Selulosa

Selulosa adalah komponen karbohidrat, polimer (hemopolisakarida) dari monomer glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -(1,4) glikosidik. Selulosa memiliki berat molekul tinggi dan struktur kimia linier di mana unit selobiosa berulang membentuk polimer (Klemm *et al.*, 2011). Selulosa tidak larut dalam H₂O dan pelarut umum karena ikatan hidrogen yang kuat, baik intramolekul maupun antarmolekul (Souhoka *and* Latupeirissa, 2018).

2.2.2. Struktur Selulosa

Selulosa adalah biopolimer yang melimpah di alam, bersifat terbarukan, mudah terdegradasi, dan tidak beracun. Selulosa dengan rumus kimia $(C_6H_{10}O_5)_n$ merupakan senyawa organik yang tidak larut dalam air merupakan komponen utama serat nabati dan berfungsi sebagai komponen struktural tumbuhan dimana jumlahnya mencapai 1.200-10.000 dan panjang molekul sekurang-kurangnya 5.000 nm. Berat molekul selulosa rata-rata sekitar 400.000 (Sarumaha and Muchtar, 2022). Struktur selulosa dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Polimer Glukosa dengan Ikatan β -1,4 Glikosidik dalam Rantai Linear (Sumber: Gea, 2018).

2.2.3. Sifat Selulosa

Selulosa menunjukkan berbagai sifat yang mencakup karakteristik fisik dan kimia. Selulosa rantai panjang menunjukkan sifat fisik yang ditingkatkan, menunjukkan ketahanan yang lebih besar terhadap degradasi akibat panas, bahan kimia, dan faktor biologis. Sifat fisik utama selulosa meliputi panjang, lebar, dan ketebalan struktur molekulnya. Berikut ini adalah sifat fisik selulosa:

- Berat molekulnya dapat menurun akibat hidrolisis, oksidasi, fotokimia, atau degradasi mekanis.
- Meskipun selulosa tidak larut dalam air dan pelarut organik, selulosa menunjukkan kelarutan parsial dalam larutan alkali.
- Dalam kondisi kering, selulosa dicirikan sebagai higroskopis, kaku, dan rapuh; namun, ketika selulosa menahan cukup banyak air, selulosa menjadi lentur.

Dengan demikian, air berperan sebagai agen pelunak dalam konteks ini. Selulosa kristal menunjukkan kekuatan yang lebih unggul dibandingkan dengan selulosa amorf (Fengel *and* Wenger, 1995).

2.2.4. Perbedaan Selulosa Tumbuhan dan Selulosa Bakteri

Selulosa dari tumbuhan selalu mengandung hemiselulosa dan lignin sehingga proses pemurniannya cukup sulit (Anwar *et al.*, 2016). Selulosa bakteri, terutama diproduksi oleh *Acetobacter xylinum*, berbeda terutama dari selulosa tumbuhan dalam kemurniannya. Selulosa yang diproduksi secara bakteri bebas dari hemiselulosa dan lignin sehingga dapat digunakan dalam berbagai aplikasi industri tanpa memerlukan perlakuan awal (Iguchi *et al.*, 2000). Tabel 2 berikut menunjukkan beberapa perbedaan selulosa yang diperoleh dari tanaman dan selulosa dari bakteri.

Tabel 2. Perbedaan Selulosa Tumbuhan dan Bakteri

Karakteristik	Selulosa Bakteri	Selulosa Tumbuhan
Sumber	Genara Agrobacterium dan <i>Gluconacetobacter</i> , <i>Sarcina</i>	Kapas, kayu, serat kulit pohon, serat biji, serat
Kemurnian	Murni secara alami	Tidak murni. Adanya lignin dan hemiselulosa
Daya Tarik	200 – 300 MPa	750 – 1080 Mpa dengan kepadatan 1450-1590 kg.m ⁻²³
Sifat Lunak	Tinggi. Karena modulus elastisitas yang besar secara virtual dapat dibentuk dalam bentuk apapun	Rendah. Susunan serat mikro saling silang memberikan bentuk pada lignoselulosa
pH Optimum	5.4 – 6.3	Tidak berlaku pH
Daya Hancur	Lambat. Sel hewan tidak dapat membelah. Namun, degradasi hanya mungkin terjadi dengan non enzimatis, hidrolisis dan larutan asam	Lambat. Karena susunan struktur pita yan rumit dan adanya kotoran pada nanoselulosa
Stabilitas	Tinggi. Karena degradasi rendah	Tinggi Karena ikatan hidrogen padat di pita pengaturan struktur selulosa asli

Sumber : (Naomi *et.al.*, 2020).

2.3. *Nanocellulose*

Nanocellulose memiliki diameter 1-100 nm dan panjang 500-2000 nm. Dimensi ukuran yang dimiliki *nanocellulose* dapat membuat mempunyai luas permukaan yang tinggi serta jumlah gugus hidroksil yang tinggi sehingga memudahkan jika dilakukan modifikasi permukaan. Beberapa teknik dikembangkan untuk mengekstrak *nanocellulose* dari selulosa diantaranya hidrolisis asam, hidrolisis enzimatis, dan proses mekanis. Adapun penggunaan masing-masing metode ekstraksi dimungkinkan menghasilkan tipe dan properti *nanocellulose* yang berbeda (Ningtyas *et al.*, 2020).

Nanoselulose dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu *cellulose nanocrystals* (CNC), *cellulose nanofibrils* (CNF), dan *bacterial nanocellulose* (BNC). CNC berbentuk seperti jarum atau batangan sedangkan CNF berbentuk struktur jaringan selulosa yang mengandung bagian *amorf* dan kristalin. BNC merupakan nanoselulosa yang diperoleh dari fermentasi glukosa dengan menggunakan bakteri. Nanoselulosa dapat diekstraks dan diproduksi dari berbagai sumber selulosa antara lain alga, bakteri, jamur, rumput, tanaman, dan hewan (Abral, *et al.*, 2020). Berbagai metode untuk membuat *nanocellulose* antara metode mekanis maupun kimiawi.

2.4. *Bacterial Nanocellulose* (BNC)

2.4.1. Defenisi *Bacterial Nanocellulose*

Nanoselulosa bakteri disintesis oleh bakteri aerob seperti bakteri asam asetat dalam bentuk selulosa murni berukuran nano, dengan panjang kurang dari 100 nm dan lebar 2-4 nm (Ashrafi *et al.*, 2019). Bakteri penghasil BNC berasal dari bakteri Gram negatif, seperti *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, dan *Alcaligenes*. Selanjutnya bakteri dari genera *Gluconacetobacter*, *Agrobacterium*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* dan *Sarcina* dapat mensintesis BNC dari glukosa dan berbagai sumber karbon lainnya. BNC dihubungkan oleh ikatan glikosidik β -1,4 ekstraseluler yang murni secara kimia, mendukung kelangsungan

hidup mereka di lingkungan alami ketika sel-sel menetap di permukaan media kultur dan terperangkap dalam membran seperti cangkang agar-agar yang terdiri dari serat selulosa. Imobilisasi sel mendorong pengangkutan nutrisi dan oksigen yang efisien, yang penting bagi bakteri aerob ini karena kapasitas menahan air yang tinggi (air menyumbang sekitar 98% berat membran basah) polisakarida ini melindungi produsennya dari pengeringan. Matriks BNC juga melindungi bakteri penghasilnya dari faktor lingkungan merugikan lainnya, seperti radiasi UV (Rojas, 2016).

2.4.2. Produksi *Bacterial Nanocellulose*

BNC dibuat pada antarmuka medium udara-cair menggunakan media cair *Hestrin Schramm* (HS). BNC biasanya diproduksi melalui fermentasi pada nilai pH di bawah 5 dan disekresikan sebagai eksopolisakarida dalam bentuk lapisan tipis setelah kontak dengan udara. Terakhir, isolasi BNC melibatkan pemurnian dalam kondisi basa diikuti dengan pengepresan dan pengeringan untuk menghilangkan air. Namun, perlakuan alkali yang kuat dapat menyebabkan degradasi dan akhirnya menyebabkan pecahnya secara keseluruhan (Gorgieva *and* Trcek, 2019). Oleh karena itu, dilakukan perlakuan alternatif dengan homogenisasi mekanis atau hidrolisis asam ringan, yang mana hasilnya lebih baik jika menggunakan asam klorida daripada asam sulfat. Kondisi asam ringan yang diterapkan untuk BNC dibandingkan dengan kondisi yang lebih keras untuk hidrolisis kimia selulosa tanaman diperlukan untuk mempertahankan kristalinitas, derajat polimerisasi, dan stabilitas termal yang tinggi (Rovera, *et al.*, 2018). Oleh karena itu, hidrolisis enzimatik ringan lebih disukai untuk isolasi nanofibril dari BNC.

2.4.3. Proses Sintesis *Bacterial Nanocellulose*

BNC diproduksi melalui proses biosintetik yang melibatkan bakteri. Selama proses ini, bakteri menggunakan substrat seperti glukosa untuk menghasilkan selulosa melalui jalur enzimatik yang kompleks. Ada berbagai metode untuk meningkatkan efisiensi produksi, seperti optimalisasi kondisi budidaya,

penambahan bahan aditif, dan modifikasi genetik (Ghasemi *et al.*, 2020). Selain itu, penggunaan media alternatif seperti limbah pertanian juga sedang dikaji agar proses produksi lebih berkelanjutan.

2.4.4. Isolasi Mikroba dari Sumber Alami

Isolasi mikroorganisme dari lingkungan alaminya telah lama menjadi metode utama untuk mengeksplorasi bakteri penghasil BNC. Lingkungan yang kaya akan bahan organik yang dapat membusuk (misalnya buah yang membusuk) merupakan habitat alami bagi berbagai jenis mikroorganisme dengan kemampuan biotransformasi (Ross *et al.*, 1991). Mikroorganisme ini mengandung kandungan gula yang tinggi pada buah busuk sebagai substrat sintesis BNC. Dalam proses isolasi mikroba, langkah pertama melibatkan pengumpulan sampel dari buah busuk dan kemudian menginokulasikannya ke dalam media selektif untuk mendorong pertumbuhan bakteri penghasil BNC (Czaja *et al.*, 2012). Media yang umum digunakan adalah media *Hestrin-Schramm* (HS), yang kaya akan glukosa dan nitrogen untuk mendukung biosintesis selulosa (Hestrin and Schramm, 1954).

2.4.5. Metode Isolasi

Isolasi mikroba penghasil BNC dari buah busuk umumnya melibatkan beberapa tahapan kritis: 1). Pengumpulan dan persiapan sampel, 2). Pengenceran berseri, 3). Inokulasi pada media selektif dan 4). Skrining dan karakterisasi isolat. Media yang umum digunakan untuk isolasi termasuk *Hestrin-Schramm* (HS) dan media modifikasinya, yang mengandung glukosa, ekstrak ragi, pepton, dan nutrisi lain yang mendukung pertumbuhan bakteri penghasil BNC (Castro, *et al.*, 2012).

2.4.6. Optimasi Produksi BNC dari Mikroba Isolat

Setelah bakteri penghasil BNC berhasil diisolasi, langkah berikutnya adalah optimasi kondisi fermentasi untuk memaksimalkan produksi. Berbagai faktor lingkungan seperti pH, suhu, konsentrasi sumber karbon, serta ketersediaan

oksigen sangat mempengaruhi hasil produksi BNC (Tsouko *et al.*, 2015). Selain itu, sumber karbon alternatif seperti fruktosa, manosa, dan sukrosa telah diuji sebagai substrat untuk produksi BNC, dengan hasil yang menunjukkan bahwa variasi sumber karbon dapat meningkatkan efisiensi produksi selulosa (Son *et al.*, 2003). Teknik fermentasi batch dan semi-kontinu juga telah dikembangkan untuk meningkatkan skala produksi BNC dari isolat mikroba (Gatenholm *and* Klemm, 2010).

2.5. Karakterisasi BNC

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

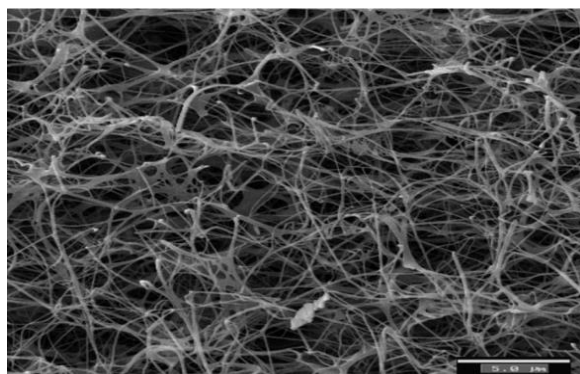
2.5.1. *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

SEM (*Scanning Electron Microscope*) merupakan perkembangan dari mikroskop optik, yang memiliki batas pembesaran hingga 1000 kali, sehingga SEM mampu mencapai pembesaran maksimal hingga 150.000 kali, tergantung pada kondisi sampel dan alat SEM yang digunakan. Perangkat SEM terdiri dari empat sistem utama. Pertama, sistem penembakan elektron yang menghasilkan sejumlah elektron. Kedua, sistem lensa yang menggunakan medan elektromagnetik untuk memfokuskan berkas elektron pada permukaan sampel. Ketiga, sistem scanning yang membentuk citra berdasarkan prinsip pemindaian. Keempat, sistem deteksi yang memanfaatkan elektron sekunder dan elektron yang dipantulkan kembali. Sampel yang akan dianalisis menggunakan SEM harus memiliki permukaan yang relatif rata dan halus (Johan, 2009).

Prinsip pengoperasian SEM adalah memotret permukaan suatu benda dengan berkas elektron berenergi tinggi. Permukaan benda yang terkena sinar akan memantulkan kembali sinar tersebut atau menghasilkan elektron sekunder ke segala arah. Detektor di dalam SEM terlihat seperti Mendeteksi elektron hamburan balik dan menemukan lokasi berkasnya dipantulkan dengan intensitas

maksimum. SEM digunakan untuk penemuan karakteristik morfologi dari selulosa bakteri, topografi, dan informasi kristalografi. Keuntungan SEM adalah memiliki pemisahan yang tinggi, menampilkan data permukaan sampel dan kemudahan penyimpanan spesimen (Singh *et al.* 2017).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Nurbaiti (2022), hasil analisis SEM terhadap pelikel BNC menunjukkan bahwa morfologi BNC memiliki struktur jaringan serat yang saling terhubung dan rapat. Serat tersebut berukuran nano dengan diameter berkisar antara 39-65 nm pada pembesaran 20.000 kali. Mikrograf SEM dari BNC ditampilkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Mikrograf SEM dari BNC (Sumber : Omar *et al.*, 2012)

2.5.2. FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

FTIR bekerja berdasarkan prinsip absorpsi radiasi inframerah oleh molekul yang kemudian menghasilkan spektrum inframerah unik. Absorpsi ini terjadi akibat vibrasi molekul, yang menciptakan pola spektrum khas pada berbagai frekuensi, tergantung pada jenis ikatan kimia dan gugus fungsi dalam molekul. Pada karakterisasi BNC, pita serapan yang dihasilkan oleh spektrum FTIR sangat berguna untuk mengidentifikasi gugus-gugus kimia utama yang ada, serta interaksi yang terjadi dalam struktur BNC (Salari *et al.*, 2019)

Spektrum FTIR untuk BNC biasanya menunjukkan beberapa pita karakteristik yang mencerminkan keberadaan selulosa dalam material. Pita serapan pada 3400 cm^{-1} umumnya diasosiasikan dengan gugus hidroksil (-OH) yang kuat, yang

merupakan karakteristik utama dari selulosa. Selain itu, pita di sekitar 2900 cm^{-1} menunjukkan vibrasi regangan simetris dan asimetris dari ikatan C-H, sementara pita di sekitar 1100 cm^{-1} mengindikasikan vibrasi dari ikatan C-O dalam struktur glikosidik selulosa. Kehadiran puncak-puncak ini memberikan bukti bahwa struktur utama dari BNC merupakan selulosa (Lanjwani *et al.*, 2011).

III. METODE PERCOBAAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2024 – Juli 2025 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis SEM dan FTIR dilakukan di Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi Terpadu (LTSIT) Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, Erlenmeyer, pipet tetes, *laminar air flow*, *autoclave*, rak tabung reaksi, neraca analitik, jarum ose, kasa, kapas, oven, tusuk gigi, *hotplate*, dan inkubator.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah sampel buah-buahan busuk, D-glukosa, pepton, NaOH, yeast extract, CaCO_3 , Na_2HPO_4 , asam sitrat, NaCl, akuades, agar powder, dan etanol.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Tahap Persiapan Alat

Tahap pertama yang dilakukan adalah sterilisasi alat. Sterilisasi bertujuan untuk menghilangkan mikroba atau kontaminan pada alat. Alat-alat gelas yang akan dipakai dicuci terlebih dahulu menggunakan sabun hingga bersih, dikeringkan, dibungkus menggunakan kertas dengan rapat, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 125°C dan tekanan 1 atm.

Selanjutnya alat-alat gelas dikeringkan kembali menggunakan oven pada suhu 100°C (Rina, 2022).

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:

3.3.2.1. Medium HS Agar

Pembuatan media HS agar dilakukan dengan cara menimbang sebanyak 2 g glukosa, 0,5 g pepton, 0,5 g *yeast extract*, 0,27 g Na₂HPO₄, 0,12 g asam sitrat, 1,5 g agar powder dilarutkan dalam 100 mL aquades. Media dipanaskan sampai bahan larut dan pH menjadi 6. Media disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Nurbaiti, 2022).

3.3.2.2. Medium HS Cair

Media disiapkan dengan cara menimbang sebanyak 2 g glukosa, 0,5 g pepton, 0,5 g *yeast extract*, 0,27 g Na₂HPO₄, 0,12 g asam sitrat, dilarutkan dalam 100 mL akuades. Media dipanaskan sampai bahan larut dan pH menjadi 6. Media disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Nurbaiti, 2022).

3.3.2.3. Medium HS Cair Termodifikasi

Medium HS cair termodifikasi dibuat dengan melarutkan 2 g *yeast extract*, 0,5 g pepton, 0,12 g asam sitrat dan 0,27 g Na₂HPO₄ dalam 100 mL limbah cair nanas yang mengandung glukosa dengan nilai Brix sebesar 6%. Kemudian, media dipanaskan sampai seluruh bahan larut sempurna dan pH medium dibuat menjadi 6. Media lalu disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 125°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit (Ramadani, 2022).

3.3.2.4. Medium GEY

Media disiapkan dengan cara menimbang 2 g glukosa, 1 g *yeast extract*, 2 g agar, dan 0,3 g CaCO_3 dilarutkan dalam 100 mL akuades. Media lalu dipanaskan sampai bahan larut dan disterilisasi selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm. Media yang sudah disterilisasi kemudian ditambah etanol 5 mL saat suhu media sudah turun (Nurbaiti, 2022).

3.3.3. Isolasi Mikroba dari Buah Busuk

Sampel yang digunakan yaitu buah-buahan busuk. Isolasi dilakukan dengan menggunakan media HS agar dengan pengenceran bertingkat dan *spread plate method*. Sampel buah busuk dihaluskan satu per satu lalu diencerkan sampai 6 kali dengan cara 1 g sampel yang sudah dihaluskan disuspensikan ke dalam 10 mL air salin (suspensi 10^1), dari suspensi 10^1 diambil 1 mL lalu disuspensikan ke dalam 9 mL air salin (suspensi 10^{-1}), dilakukan perlakuan yang sama sampai suspensi 10^{-6} . Masing-masing pengenceran kemudian diambil sebanyak 100 μL dituang pada media Hestrin-Schramm Agar lalu diratakan dengan *spreader*, kemudian diinkubasi selama 48 jam. Isolat kandidat yang dipilih adalah isolat yang mampu tumbuh dengan baik dalam waktu 48 jam, disimpan pada Agar Miring HS. Isolat kandidat tersebut kemudian dimurnikan lebih lanjut (Ramadani, 2022).

3.3.4. Skrining Bakteri Penghasil Selulosa

Pemurnian isolat kandidat dilakukan dengan metode *streak plate*, dengan cara menggoreskan isolat kandidat ke media dengan goresan empat kuadran. Tahap pemurnian dilakukan sekitar 3 kali pengulangan hingga diperoleh isolat murni (koloni tunggal) yang menunjukkan karakteristik yang tetap. Koloni tunggal yang diperoleh ditumbuhkan pada media *Hestrin-Schramm* agar miring. Selanjutnya isolat diuji dengan cara seleksi media padat dan seleksi media cair (Ramadani, 2022).

3.3.4.1. Seleksi Media Padat

Isolat diambil dengan menggunakan tusuk gigi steril dan totolkan pada media GEY lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 30°C. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur diameternya (Singh *et al.*, 2017).

3.3.4.2. Seleksi Media Cair

Seleksi media cair dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 1 ose isolat dari masing-masing isolat terpilih diinokulasikan kedalam 10 mL media *Hestrin-Schramm* cair pada tabung reaksi, lalu dishaker selama sehari. Setelah itu, tambahkan 5% media inokulum ke dalam media HS cair 10 mL, kemudian diinkubasi dalam kondisi statis sampai tumbuh pelikel pada suhu 30°C. Kultur yang menghasilkan pelikel dipilih untuk uji selanjutnya (Ramadani, 2022).

3.3.5. Uji Aktifitas Bakteri

Isolat yang telah melalui tahap skrining, diseleksi lebih lanjut untuk pada media GEY (*Glucose, Ethanol, Yeast*) yang mengandung (2% Glukosa, 5% etanol, 1 % *yeast extract* , 0,3% CaCO₃, dan 2% agar) pada suhu 30°C. Selama 48 jam waktu inkubasi, maka akan terbentuk zona bening di sekitar koloni. Adanya zona bening yang terbentuk, kemudian akan diukur diameter koloni maupun diameter zona bening untuk diketahui indeks selulosa yang diperoleh dari isolat tersebut. Zona bening yang terbentuk akibat dari proses pemecahan molekul glukosa yang telah dilakukan oleh bakteri akibat dari proses metabolisme sel bakteri secara ekstraseluler. Isolat yang memiliki indeks halo terbesar kemudian diuji lebih lanjut (Ramadani, 2022).

3.3.6. Inokulasi

Pembuatan inokulum dilakukan dengan mengambil sebanyak 2 ose dari masing masing stok kultur kemudian ditumbuhkan dalam 20 mL medium HS cair. Kemudian media dishaker selama 20 jam (Ramadani, 2022).

3.3.7. Produksi *Bacterial Nanocellulose*

Produksi *bacterial nanocellulose* dilakukan dengan penambahan inokulum yang telah dishaker selama 20 jam, setelah 20 jam masing-masing inokulum dari stok kultur (5% v/v) diinokulasikan kedalam 50 mL medium fermentasi dalam Erlenmeyer 250 mL yang mengandung glukosa dengan nilai Brix sebesar 8% sebagai sumber karbon. Selanjutnya pH disesuaikan pada 4,5, dan difermentasi selama 14 hari dengan kondisi statis (Ramadani, 2022).

3.3.8. Produksi BNC oleh Kultur Kombucha

Sebanyak 2,5 mL kultur kombucha ditumbuhkan ke dalam 47,5 mL medium HS T dengan variasi brix pertama yaitu 3%, 7%, 8%, 9%, 12% dan 18%. Sebagai pembanding, HS standar diperlukan juga untuk menumbuhkan kultur kombucha. Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 14 hari di suhu ruang dan dalam kondisi statis. Setelah dilakukan variasi brix pertama selanjutnya dilakukan variasi brix yang kedua yaitu yang terbaik dari variasi brix pertama. Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 14 hari di suhu ruang dan dalam kondisi statis.

3.3.9. 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. 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 (Nurbaiti, 2022).

Rumus untuk menghitung WHC adalah:

$$\text{WHC (\%)} = \frac{\text{Berat basah}-\text{Berat kering}}{\text{Berat basah}} \times 100\% \quad (1)$$

Pengukuran WHC pada pelikel BNC bertujuan untuk mengukur daya serapnya terhadap air. Pelikel BNC yang berkualitas baik apabila mengandung WHC lebih dari 85% (Akbar, 2023).

3.3.10. Perhitungan Efisiensi Produksi BNC

Setelah 14 hari masa fermentasi, efisiensi produksi BNC pada kondisi kultur yang berbeda dievaluasi berdasarkan % konsumsi substrat (2) dan % hasil konversi substrat ke BNC (3) yang dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$\% \text{ konsumsi substrat} = \frac{TS_i - TS_f}{TS_i} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ hasil konversi substrat ke BNC} = \frac{BNC(\frac{g}{L})_{at \ t_{end}}}{TS_i - TS_f} \times 100 \quad (3)$$

dimana TS_i dan TS_f masing-masing adalah konsentrasi gula ($g L^{-1}$) pada awal dan akhir fermentasi, sedangkan t_{end} menunjukkan waktu berakhirnya fermentasi (14 hari).

3.3.11. Karakteristik *Bacterial Nanocellulose*

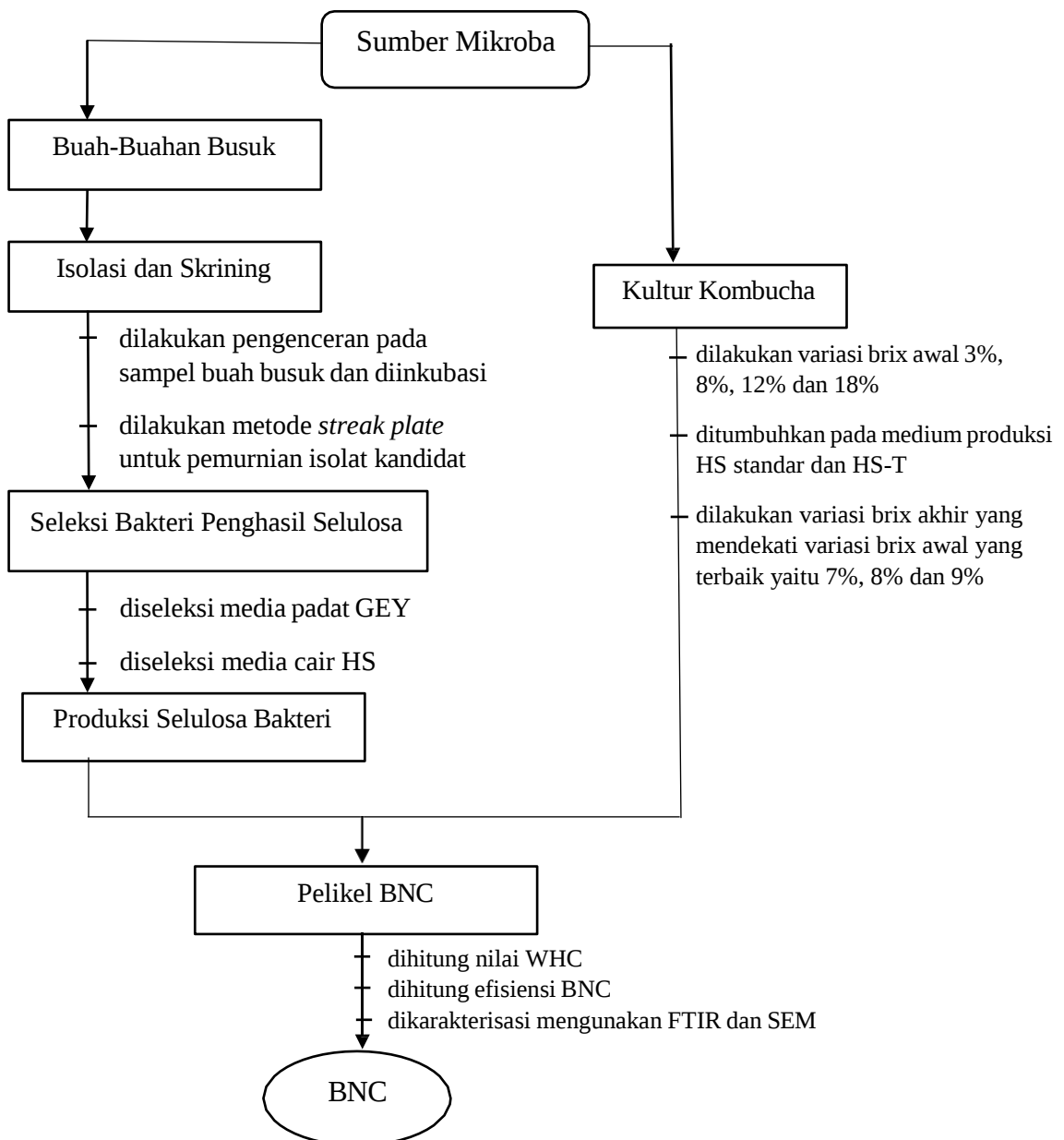
3.3.11.1 *Scanning Electron Microscope (SEM)*

Sampel pelikel bakteri nanoselulosa dipotong-potong dan dikeringkan sampai beratnya konstan. Sampel yang telah kering lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk. Morfologi permukaan BNC dianalisis dengan instrumen SEM (Budiarti, 2023).

3.3.11.2 Fourier Transform Infra - sRed (FTIR)

Sampel pelikel bakteri nanoselulosa dikeringkan sampai beratnya konstan. Sampel yang telah kering lalu dihaluskan hingga menjadi serbuk. Analisis dilakukan dengan FTIR pada range spektrum $500-4000\text{ cm}^{-1}$ pada suhu ruang (Budiarti, 2023).

3.4 Diagram Alir



Gambar 4. Diagram Alir Penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian ini, maka dapat diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Kultur kombucha terbukti efektif dalam menghasilkan pelikel BNC pada medium HS-T yang berbasis limbah cair nanas. Hasil optimal ditemukan pada konsentrasi gula sebesar 8% brix.
2. Efisiensi produksi BNC tertinggi dicapai pada media HS-T 8% brix, dengan nilai konversi substrat ke BNC sebesar **62,5%**, lebih tinggi dibandingkan dengan media HS standar.
3. Hasil analisis menggunakan FTIR menunjukkan gugus fungsi O-H *stretching*, CO dari glikosidik dan gugus C-H *stretching* bahwa BNC yang diperoleh adalah selulosa.
4. Hasil analisis menggunakan SEM menunjukkan partikel berukuran nano dengan diameter 56 nm pada perbesaran 20.00 kali.

5.2. Saran

Adapun saran yang perlu disampaikan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut :

1. Memproduksi BNC menggunakan limbah cair industri lainnya.
2. Perlu dilakukan uji sifat mekanik, kristalinitas, dan biodegradasi pelikel BNC untuk menilai kelayakannya sebagai bahan biomaterial dalam bidang medis, pangan, dan industri tekstil.

DAFTAR PUSTAKA

- Abral, H., Fajri, N., Mahardika, M., Handayani, D., Sugiarti, E., and Kim, H. J. 2020. A Simple Strategy In Enhancing Moisture And Thermal Resistance And Tensile Properties Of Disintegrated Bacterial Cellulose Nanopaper. *J Mater Res Technol*, Pp. 12346-12353.
- Akbar, N. N. 2023. Optimasi Kondisi Kultur Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) oleh Isolat Kc-D-4 dari Limbah Cair Industri Nanas. Lampung. Universitas Lampung.
- Anwar, B., Bundjali, B., dan Arcana, I. M. 2016. Isolasi Nanokristalin Selulosa Bakterial Dari Jus Limbah Kulit Nanas: Optimasi Waktu Hidrolisis. *Jurnal Kimia Kemasan*, 38(1), 7-14.
- Arifudin, O. 2020. PKM Pembuatan Kemasan Dan Perluasan Pemasaran Minuman Sari Buah Nanas Khas Kabupaten Subang Jawa Barat. *Aptekmas : Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 3(2), 20-28.
- Ashrafi, Z., Lucia, L., and Krause, W. 2019. Bioengineering Tunable Porosity In Bacterial Nanocellulose Matrices. *Soft Matter*, 15(45), 9359–9367.
- Budiarti, F. D. 2023. Optimasi Kondisi Kultur Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) Oleh Isolat Kc-T-1 Dari Limbah Cair Industri Tebu. Lampung : Universitas Lampung.
- Castro, C., Zuluaga, R., Putaux, J. L., Caro, G., Mondragon, I., and Gañán, P. 2012. Structural Characterization Of Bacterial Cellulose Produced By *Gluconacetobacter Swingsii* Sp. From Colombian Agroindustrial Wastes. *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 96-102.
- Czaja, W., Krystynowicz, A., Bielecki, S., and Brown, R. 2006. Biomaterials. 145–151.
- Edgar, K. I., Buchanan, C. M., Debenham, J. S., Rundquist, P. A., Seiler, B. D., Shelton, M. C., and Tindall, D. 2001. Advances In Cellulose Ester Performance And Application. *Prog Polym Sci*, 26, 1605–1688.

- Effendi, D. B., Rosyid, N. H., Nandiyanto, A. B., Mudzakir, dan Ahmad. 2015. Review: Sintesis Selulosa. *Jurnal Integrasi Proses.*, 5(2), 61 - 74.
- Fengel, D., dan Wenger, G. 1995. *Kayu: Kimia, Ultrastruktur, Reaksi-Reaksi*. (P. H. Sastrohamidjo, Penerj.) In. Yogyakarta: Gajahmada University Press.
- Gallegos, A. M., Carrera, S., H., Parra, R., Keshavarz, T., and Iqbal, H. M. 2016. Bacterial Cellulose: A Sustainable Source To Develop Value-Added Products. *A Review. Bioresources*, 11(2), 5641-5655.
- Gatenholm, P., and Klemm, D. 2010. Bacterial Nanocellulose As A Renewable Material For Biomedical Applications. *MRS Bulletin*, 35(3), 206-213.
- Ghasemi , S., Bari , M. R., Pirsas , S., and Amiri, S., C. 2020. Use Of Bacterial Cellulose Film Modified By Polypyrrole/TiO₂-Ag Nanocomposite For Detecting And Measuring The Growth Of Pathogenic Bacteria. *Arbohydr Polym*, 232(115801).
- Gorgieva, S., and Trček, J. 2019. Bacterial Cellulose: Production, Modification And Perspectives In Biomedical Applications. *Nanomaterials*, 9(10), 1352.
- Handayani, T. W., and Sutanto, A. 2016. Pengaruh Limbah Cair Nanas (LCN) Terhadap Pertumbuhan Dan Kadar Omega 3 Chlorella Sp. *Jurnal Lentera Pendidikan Pusat Penelitian*, 1(2), 162-169.
- Hertiwi, L. R., Afni, A. N., Lailiyah, N., and Sanjaya, G. M. 2020. Ekstraksi Dan Karakterisasi Nanoselulosa Dari Limbah Kulit Bawang Merah. *Journal Education And Chemistry*, 2(1), 77-81.
- Hestrin, S., and Schramm, M. 1954. Synthesis Of Cellulose By Acetobacter Xylinum Preparation Of Freeze-Dried Cells Capable Of Polymerizing Glucose To Cellulose. *Biochemical Journal*, 58(2), 345-352.
- Hon, D. N. 2001. *Cellulose. Chemistry And Technology*: Springer.
- Iguchi, M. Y. 2000. Bacterial Cellulose – A Masterpiece Of Nature's Arts. *Journal Of Materials Science*, 261–270.
- Jasso, R. R., Mussatto, I., and Teixeira, J. A. 2011. Haracterization And Application Of Enzymes Produced By Fungi Grown On Pineapple Waste. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 59(24), 13254-13263.
- Johan, A. 2009. Karakterisasi Sifat Fisik Dan Mekanik Bahan Refraktori A-Al₂O₃ Pengaruh Penambahan TiO₂. *Jurnal Penelitian Sains*, 1(2), 1-8.
- Kementan, R. 2016. *Outlook Komoditas Pertanian Sub Sektor Hortikultura Nenas*. Pusat Data Dan Sistem Informasi Pertanian.
- Keshk, S. M. 2014. Bacterial Cellulose Production And Its Industrial Applications. *Journal Of Textile Science & Engineering*, 4(2), 1-15.

- Klemm, D., Philipp, B., Heinze, T., Heinze, U., and Wagenknecht, W. 1998. *Comprehensive Cellulose Chemistry*. Chichester: Wiley VCH.
- Kusuma, A. P., 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.
- Lanjwani, A. H., Memon, A. A., Bhatti, S., Ghanghro, I. H., Ghanghro, A. B., and Shah, Q. 2011. Ftir Spectral Analysis, Phytochemical And Biological Activity Of Ricinus. *International Journal Of Advanced Research*, 8(7), 1174-118.
- Morgan, J. L., Strumillo, J., and Zimmer, J. 2013. Crystallographic Snapshot Of Cellulose Synthesis And Membrane Translocation. *Nature*, 493(7431), 181-186.
- Naomi, R., Idrus, R., and Fauzi, M. 2020. Plant Vs Bacterial Derived Cellulose For Woundhealing. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 1-25.
- 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), 142-148.
- Novikov, I. V., Pigaleva, M. A., Naumkin, A. V., Badun, G. A., Levin, E. E., Kharitonova, E. P., and Gallyamov, M. O. 2021. Green Approach For Fabrication Of Bacterial Cellulose-Chitosan Composites In The Solutions Of Carbonic Acid Under High Pressure CO₂. *Carbohydr. Polym.*
- Nurbaiti. 2022. *Produksi Bacterial Nanocellulose (BNC) Dari Limbah Nanas Oleh Mikroba Isolat Lokal Kc-D-4*. Lampung: Universitas Lampung.
- Pandey, K. K., and Pitman, A. J. 2003. FTIR Studies Of The Changes In Wood Chemistry Following Decay By Brown-Rot And White-Rot Fungi. *Int. Biodeterior. Biodegrad*, 52(3), 154-159.
- Ramadani, H. C. 2022. *Penapisan Isolat Mikroba Penghasil Bacterial Nanocellulose (BNC)*. Lampung: Universitas Lampung.
- Rojas, O. J. 2016. *Cellulose Chemistry And Properties: Fibers, Nanocelluloses And Advanced Materials*. Springer: New York.
- Rojas, J. A. 2020. "Production and Characterization of Bacterial Cellulose Nanofibers with High Water Holding Capacity." *Carbohydrate Polymers*, 250, 116-123.
- Ross, P., Mayer, R., and Benziman, M. 1991. Cellulose Biosynthesis And Function In Bacteria. *Microbiological Reviews*, 35-58.

- Rovera, C., Ghaani, M., Santo, N., Trabattoni, S., Olsson, R. T., Romano, D., and Farris, S. 2018. Enzymatic Hydrolysis In The Green Production Of Bacterial Cellulose Nanocrystals. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(6), 7725-7734.
- Salari , M., Khiabani , M. S., Mokarram , R. R., Ghanbarzadeh , B., and Kafil , H. S. 2019. Preparation And Characterization Of Cellulose Nanocrystals From Bacterial Cellulose Produced In Sugar Beet Molasses And Cheese Whey Media. *Int J Biol Macromol*, 122, 280-288.
- Samyn, P., Meftahi , A., Geravand, S. A., Heravi , M. E., Najarzadeh , H., Sabery, M. S., and Barhoum, A. 2023. Opportunities For Bacterial Nanocellulose In Biomedical Applications: Review On Biosynthesis, Modification And Challenges. *International Journal Of Biological Macromolecules*, 1-25.
- Sarkono, Moeljopawiro, S., Setiaji, B., dan Sembiring, L. 2012. Optimasi Kondisi Fermentasi Untuk Produksi Selulosa Bakteri Oleh Strain SLK-1 Dalam Media Dasar Air Kelapa. *Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP Universitas Sebelas Maret (UNS)*, 490-495.
- Sarumaha, G. E., and Muchtar, Z. 2022. Synthesis And Characterization Of A-Cellulose From Young. *Indonesian Journal Of Chemical*, 5(1), 28-30.
- Singh, S., Maurya, P., and Soni , K. 2017. Techniques For Nanoparticles. *International Journal Of Novel Research And Development*, 8(2), 460-467.
- Souhoka, F. A., and Latupeirissa , J. 2018. Sintesis Dan Karakterisasi Selulosa Asetat (Ca). *Indo. J. Chem. Res.*, 58-62.
- Suopajarvi, T., Ricci, P., Karvonen, V., and Ottolina. 2020. Acidic And Alkaline Deep Eutectic Solvents In Delignification And Nanofibrillation Of Corn Stalk, Wheat Straw, And Rapeseed Stem Residues. *Industrial Crops And Products*, 145.
- Sutanto, A., dan Suarsini, E. 2011. *Nata De Pina Dari Limbah Cair Nanas (LCN)*. UMM Press Malang: Universitas Muhammadiyah Malang.
- Tamsar, K. T., Kardhinata, E. H., dand Lubis, K. 2022. Identifikasi Karakter Morfologi Tanaman Nanas (*Ananas Comosus (L.) Merr*) Di Kabupaten Simalungun Provinsi Sumatera Utara. *Jurnal Online Agroekoteknologi*, 10(2), 1-9.
- Tsouko , E., Kourmentza, C., and Ladakis , D. 2015. Bacterial Cellulose Production From Industrial Waste And By-Product Streams. *Int J Mol Sci*, 16, 14832–14849.
- Widiastuti, E., and Marlina, A. 2020. Optimasi Pembuatan Nanoselulosa Dari Rumput Alang-Alang. *Fluida*, 13(2), 59-64.