

**PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI LIMBAH
CAIR MOLASE OLEH ISOLAT TUNGGAL DAN KONSORSIUM
MIKROBA KULTUR KOMBUCHA**

(Skripsi)

Oleh

Sabrina Zulaika
2017011025



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

ABSTRAK

PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI LIMBAH CAIR MOLASE OLEH ISOLAT TUNGGAL DAN KONSORSIUM MIKROBA KULTUR KOMBUCHA

Oleh

Sabrina Zulaika

Bacterial Nanocellulose (BNC) merupakan biopolimer selulosa yang ramah lingkungan dan memiliki potensi luas di berbagai bidang, seperti medis, pangan, dan industri material. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh penggunaan isolat tunggal dan konsorsium mikroba terhadap produksi BNC, menilai efisiensi produksi BNC dari substrat molase, serta mengkaji karakteristik struktur dan kemampuan fungsional pelikel BNC. Produksi BNC dilakukan menggunakan isolat tunggal dan konsorsium mikroba kultur kombucha dalam medium HS standar dan medium berbasis molase (HS-T), lalu pelikel BNC yang dihasilkan dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) dan *Scanning Electron Microscopy* (SEM).

Hasil eksperimen menunjukkan bahwa penggunaan konsorsium mikroba kultur kombucha dengan medium HS-T paling baik untuk produksi BNC. Pada perlakuan tersebut diperoleh pelikel sebesar 4,02 g L⁻¹ dan memiliki kemampuan menahan air (WHC) mencapai 97,58%. Konsumsi substrat pada medium HS-T sebesar 15,49% dan sebesar 36,55%-nya dikonversi menjadi BNC. Analisis FTIR mengonfirmasi bahwa pelikel yang dihasilkan adalah selulosa, yang ditandai oleh pita serapan kuat pada 3339,7 cm⁻¹ (–OH *stretching*), 2892,4 cm⁻¹ (–CH *stretching*), 1640,0 cm⁻¹ (–OH *bending*), 1423,8 cm⁻¹ (–CH₂ *bending*), dan 1028,7 cm⁻¹ (C–O–C eter dan C–O–H dari cincin gula). Sementara itu, hasil SEM menunjukkan struktur serat berukuran nano (52–92 nm), sehingga pelikel yang dihasilkan dapat dikonfirmasi sebagai BNC. Temuan ini menunjukkan bahwa konsorsium mikroba kultur kombucha dan substrat molase merupakan kombinasi yang menjanjikan untuk produksi BNC yang optimal.

Kata Kunci: *Bacterial Nanocellulose* (BNC), kombucha, konsorsium mikroba, isolat tunggal, molase

ABSTRACT

PRODUCTION OF BACTERIAL NANOCELLULOSE (BNC) FROM MOLASSES WASTEWATER BY SINGLE ISOLATE AND KOMBUCHA CULTURE CONSORTIUM

By

Sabrina Zulaika

Bacterial Nanocellulose (BNC) is an environmentally friendly cellulose biopolymer with broad potential applications in various sectors, such as medicine, food, and material industries. This study aims to evaluate the effects of using a single isolate and microbial consortia on BNC production, assess the efficiency of BNC production from molasses substrates, and examine the structural characteristics and functional capabilities of BNC pellicles. BNC production was carried out using single isolate and microbial consortia of kombucha culture in standard HS medium and molasses-based medium (HS-T), then the resulting BNC pellicles were then characterized using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Scanning Electron Microscopy (SEM). The experimental results showed that the use of microbial consortia of kombucha culture with HS-T medium is best for BNC production. Under this treatment, BNC pellicles of 4.02 g L^{-1} were obtained and the water hold capacity (WHC) reached 97.58%. Substrate consumption in the HS-T medium was 15.49%, and 36.55% of it was converted into BNC. FTIR analysis confirmed that the pellicles produced were cellulose, as indicated by strong absorption bands at 3339.7 cm^{-1} (–OH stretching), 2892.4 cm^{-1} (–CH stretching), 1640.0 cm^{-1} (–OH bending), 1423.8 cm^{-1} (–CH₂ bending), and 1028.7 cm^{-1} (C–O–C ether and C–O–H from the sugar ring). Meanwhile, SEM results showed a nanofiber structure (52–92 nm), so the resulting pellicles can be confirmed as BNC. These findings suggest that microbial consortia of kombucha culture and molasses substrate are a promising combination for optimal BNC production.

Keywords: Bacterial Nanocellulose (BNC), kombucha, microbial consortia, single isolate, molasses

**PRODUKSI *BACTERIAL NANOCELLULOSE* (BNC) DARI LIMBAH
CAIR MOLASE OLEH ISOLAT TUNGGAL DAN KONSORSIUM
MIKROBA KULTUR KOMBUCHA**

Oleh

Sabrina Zulaiqa

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk 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 : **Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) dari Limbah Cair Molase oleh Isolat Tunggal dan Konsorsium Mikroba Kultur Kombucha**

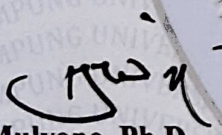
Nama Mahasiswa : **Sabrina Zulaika**

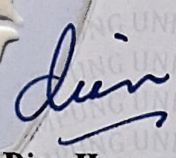
Nomor Pokok Mahasiswa : **2017011025**

Jurusan : **Kimia**

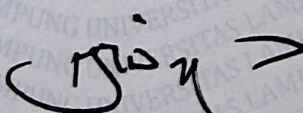
Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**




Mulyono, Ph.D.
NIP. 19740611 200003 1 002


Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si.
NIP. 19710806 200003 2 001

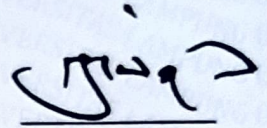
2. Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerja Sama
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam


Mulyono, Ph.D.
NIP. 19740611 200003 1 002

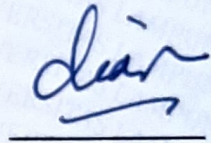
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

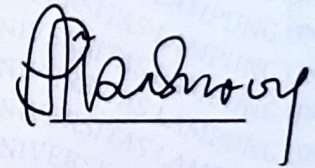
Ketua : **Mulyono, Ph.D.**



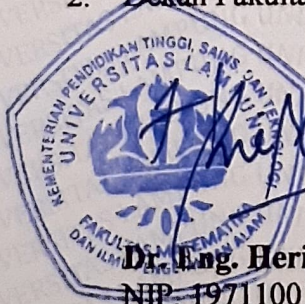
Sekretaris : **Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si.**



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

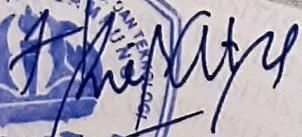


2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 19711001 200501 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **17 Juni 2025**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sabrina Zulaika
NPM : 2017011025
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) dari Limbah Cair Molase oleh Isolat Tunggal dan Konsorsium Mikroba Kultur Kombucha** merupakan benar karya saya sendiri yang tidak terdapat karya orang lain kecuali yang disebutkan dalam daftar pustaka. Sehingga, apa yang tercantum di dalam skripsi sayini dapat dipertanggungjawabkan.

Kemudian, saya juga tidak keberatan jika Sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh program studi untuk kepentingan publikasi selama nama saya tercantum dalam publikasi tersebut atas kesepakatan bersama.

Demikian surat ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Bandar Lampung, 26 Juni 2025
Yang menyatakan,



Sabrina Zulaika
NPM. 2017011025

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Metro, pada 14 Mei 2002 sebagai anak pertama dari Bapak Sunaji dan Ibu Umi Haniah. Jenjang pendidikan dimulai dari sekolah dasar di SD Negeri 2 Setia Bakti yang diselesaikan tahun 2014. Dilanjutkan dengan pendidikan menengah pertama di SMP Paramarta 1 Seputih Banyak yang diselesaikan pada tahun 2017. Kemudian, penulis menyelesaikan pendidikan menengah atas pada tahun 2020 di SMA Paramarta 1 Seputih Banyak.

Penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2020 melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) sebagai penerima manfaat Kartu Indonesia Pintar Kuliah (KIP Kuliah) dari Kemendikbudristek di tahun yang sama.

Pada tahun 2023, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Pekon Lintik, Kecamatan Krui Selatan, Kabupaten Pesisir Barat dari Januari hingga Februari. Selanjutnya, di tahun yang sama penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa, penulis pernah menjadi asisten praktikum Biokimia Jurusan Biologi Terapan FMIPA Universitas Lampung pada tahun 2024. Riwayat organisasi penulis yakni pernah menjadi Kader Muda Himaki (KAMI) periode 2020/2021, Anggota Koperasi Mahasiswa (Kopma) Unila periode 2021, Anggota Biro Usaha Mandiri Himaki periode 2022, dan Anggota Keluarga Mahasiswa Nahdlatul Ulama (KMNU) periode 2022. Penulis juga pernah menjadi Kakak Pembimbing (Kabim) pada kegiatan Training Kopma Unila tahun 2022, dan pada tahun yang sama juga pernah menjadi Sekretaris Koordinator Divisi Konsumsi pada acara Musyawarah Wilayah (Muswil) Himpunan Mahasiswa Kimia di Bandar Lampung.

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا

Maka, sesungguhnya beserta kesulitan ada kemudahan
(QS. Al-Insyirah: 5)

لَا يُكَلِّفُ اللَّهُ نَفْسًا إِلَّا وُسْعَهَا

Allah tidak akan membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya
(QS. Al-Baqarah: 286)

Apapun yang menjadi takdirmu, akan mencari jalannya untuk menemukanmu
-Ali bin Abi Thalib-

Urip Iku Urup

PERSEMBAHAN

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada suri tauladan umat, Nabi Muhammad SAW.



Kupersembahkan karya kecil ini, kepada

**Kedua Orang Tuaku tercinta
Bapak Sunaji dan Ibu Umi Haniah**

Terima kasih untuk doa-doa dan kasih sayang yang tiada terputus. Terima kasih untuk kesabaran yang tak pernah habis. Beribu kebbaikanku takkan pernah bisa membalas kasih sayang dan cinta yang telah diberikan.

**Adikku terkasih
Riadatul Khusna**

Terima kasih atas doa dan semangat yang diberikan. Semoga Allah senantiasa memberimu petunjuk, kekuatan, dan kebahagiaan dalam setiap langkah hidupmu.

**Bapak Mulyono, Ph.D. | Ibu Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si. |
Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si.**

Dan seluruh Dosen Jurusan Kimia

Terima kasih telah membimbing dan mendidik penulis selama menempuh pendidikan di kampus. Semoga Bapak dan Ibu senantiasa diberikan kesehatan dan keberkahan, aamiin.

Seluruh keluarga besar, sahabat, dan teman-temanku.

dan

Almamater

SANWACANA

Alhamdulillahirobbil'alamiin. Segala puji hanya bagi Allah SWT, yang dengan kasih sayang-Nya mengizinkan penulis melalui segala proses, tantangan, dan pembelajaran hingga skripsi ini dapat terselesaikan. Karya ini disusun sebagai bagian dari syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, yang berjudul:

Produksi *Bacterial Nanocellulose* (BNC) dari Limbah Cair Molase oleh Isolat Tunggal dan Konsorsium Mikroba Kultur Kombucha

Sholawat teriring salam senantiasa tercurah kepada suri tauladan umat, Nabi Muhammad SAW beserta para keluarga dan sahabatnya, semoga kelak kita mendapatkan syafaatnya di *Yaumul Akhir* kelak.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak pihak yang turut serta membantu dalam terselesaikannya skripsi ini. Oleh karena itu, melalui tulisan ini, penulis dengan tulus ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Cinta pertama penulis, Ayahanda Sunaji. Terima kasih telah percaya atas semua keputusan yang penulis ambil dalam melanjutkan impian. Beliau memang tidak sempat merasakan pendidikan hingga bangku perkuliahan, namun beliau mampu mendidik penulis, memberikan motivasi dan dukungan hingga penulis mampu menyelesaikan studinya hingga sarjana.
2. Pintu surga dan belahan jiwaku, Ibunda Umi Haniah. Terima kasih atas untaian doa yang tiada henti dilangitkan, kasih sayang, dan kesabaran yang tidak terbatas. Mustahil penulis mencapai titik ini jika tanpa doa, ridha, dan dukungan dari Ibu.
3. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku dosen pembimbing yang telah membimbing, mendidik, dan mengarahkan penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan. Semoga segala ilmu dan kebaikan yang Bapak berikan menjadi amal jariyah dan Allah limpahkan keberkahan untuk Bapak dan keluarga.

4. Prof. Dr. Tati Suhartati, M.S. dan Ibu Dr. Rinawati, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan, nasihat, dan motivasi sehingga penulis dapat menempuh pendidikan yang baik di Jurusan Kimia FMIPA Unila. Semoga Allah selalu memberikan rahmat dan keselamatan bagi Ibu dan keluarga.
5. Ibu Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si., selaku dosen pembimbing kedua yang senantiasa memberikan bantuan, masukan, dan nasihat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih atas ilmu yang diberikan, semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan dan keberkahan untuk Ibu beserta keluarga.
6. Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., selaku dosen pembahas yang telah memberikan kritik dan saran yang begitu besar bagi penulis hingga skripsi ini dapat diselesaikan. Terima kasih atas ilmu yang diberikan, semoga Allah senantiasa memberikan kesehatan dan keberkahan untuk Ibu beserta keluarga.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
8. Seluruh Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Terima kasih atas segala ilmu yang Bapak dan Ibu berikan, semoga Allah membalas amal jariyah Bapak dan Ibu sekalian dengan yang lebih baik.
9. Staf administrasi dan staf laboran, Pak Rudi, Mbak Yuni, Mbak Dela, terima kasih atas kerja keras dan bantuan yang diberikan, penulis amat terbantu dalam penyelesaian skripsi ini.
10. Keluarga besarku yang selalu memberikan motivasi dan semangat, juga doa serta bantuan-bantuan yang tiada terkira.
11. Tim Pak Mulyono *Research '20* (PMR'20), Hamida, Gita Fitria, Ribka Angelina Gultom, dan Ratih Nurhidayati. Terima kasih atas waktu, ilmu, dan semangat yang terus ditularkan. Semoga pengalaman yang kita lalui bersama dapat bermanfaat kedepannya.
12. Teman seperjuangan tersayang, Alda, Hamida, Gita, Agil, Ida, Eva, Ester, dan Fathia. Terima kasih telah menjadi penyemangat dan tempat berbagi selama studi dan proses penyusunan skripsi ini. Kehadiran kalian menjadi warna indah dalam setiap langkah perjuangan ini. Semoga selalu diberikan

kebahagiaan dan keberkahan oleh Allah dimana pun kalian berada. *See you on top.*

13. Sahabat-sahabatku tercinta, Nanik Suprihatin dan Rika Nur Giyanti, terima kasih untuk segala waktu, tenaga, nasihat, dan doa-doa yang dilangitkan. Semoga tetap istiqomah dalam kebaikan dan sukses dunia akhirat.
14. Keluarga Laboratorium Biokimia, Kak Ejak, Kak Nindy, Hamida, Gita, Ribka, Ratih, Agil, Umi, Leoni, Anisa, Najla, Fathia, Anggun, Widya, Rahmad, Geo, Muti, Ana, Dyasmin, Bunga, Fahrezi, Maria, Stephani, Avi, Defa, dan adik-adik Kimia 21. Terima kasih atas semangat yang kalian tularkan hingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
15. Kakak-kakak Tim Riset Mulyono, Kak Fatma Dita Budiarti, Kak Natasya Nathaniela Akbar, Kak Alinil Masruroh, dan Kak Lousanja Dira Sa'uddah yang banyak membantu penulis dalam memberikan referensi untuk penelitian dan skripsi. Dan juga untuk adik-adik 2021, tetap semangat dan sabar dalam menyelesaikan penelitiannya.
16. Keluarga besar Kimia Angkatan 2020, tanpa terkecuali.
17. Rekan-rekan KKN Lintik, "*Lintik Family Reborn*" Jesica, Meta, Cela, Arvient, Ariyanto, dan Faziah.
18. Rekan-rekan organisasi Himaki, Kopma, dan KMNU, yang tidak dapat disebutkan satu per satu.
19. Seluruh mahasiswa kimia tanpa terkecuali.
20. Semua pihak, siapa pun yang banyak membantu dan memberikan doa baik secara langsung maupun tidak langsung selama penulis menyelesaikan studi ini.

Bandar Lampung, Juni 2025
Penulis

Sabrina Zulaika

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR.....	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Selulosa.....	5
2.1.1 Pengertian Selulosa.....	5
2.1.2 Struktur Selulosa.....	6
2.1.3 Sumber Selulosa	7
2.1.3.1 Selulosa Tanaman	7
2.1.3.2 Selulosa Bakteri.....	8
2.2 Nanoselulosa.....	9
2.3 <i>Bacterial Nanocellulose</i> (BNC).....	9
2.4 Faktor yang Mempengaruhi Produksi BNC	12
2.5 Kombucha.....	12
2.6 Molase.....	14
2.7 Karakterisasi BNC	14
2.7.1 <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i> (FTIR)	15
2.7.2 <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM).....	16
III. METODE PENELITIAN	18
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
3.2 Alat dan Bahan	18
3.3 Prosedur Penelitian	19
3.3.1 Tahap Persiapan Alat.....	19
3.3.2 Pembuatan Medium	19
3.3.3 Produksi BNC.....	19
3.3.3.1 Produksi BNC oleh Isolat Kc-T-1	20
a) Peremajaan Isolat Kc-T-1	20
b) Produksi BNC	20

3.3.3.2 Produksi BNC oleh Isolat Tunggal dari Kultur Kombucha ...	21
a) Isolasi Mikroba dari Kombucha.....	21
b) Uji GEY (<i>Glucose, Ethanol, Yeast</i>).....	21
c) Produksi BNC	21
3.3.3.3 Produksi BNC oleh Konsorsium Kultur Kombucha	22
3.3.4 Pengukuran <i>Water Hold Capacity</i> (WHC)	22
3.3.5 Perhitungan Efisiensi Produksi BNC	22
3.3.6 Karakterisasi BNC	23
3.3.6.1 <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM)	23
3.3.6.2 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	23
3.4 Diagram Alir	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Produksi BNC.....	25
4.2 Produksi BNC oleh Isolat Kc-T-1	25
4.2.1 Peremajaan Isolat Kc-T-1	25
4.2.2 Pelikel BNC	26
4.3 Produksi BNC oleh Isolat Tunggal dari Kultur Kombucha	27
4.3.1 Isolat Terpilih dari Kultur Kombucha	27
4.3.2 Hasil Uji GEY.....	28
4.3.3 Pelikel BNC	29
4.4 Produksi BNC oleh Konsorsium Kultur Kombucha	30
4.5 Nilai WHC Pelikel BNC	33
4.6 Efisiensi Produksi BNC.....	34
4.7 Karakteristik BNC	36
4.7.1 Spektrum IR BNC	36
4.7.2 Morfologi Permukaan BNC.....	38
V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kandungan selulosa dalam berbagai tanaman	8
2. Sifat BNC terhadap aplikasinya	11
3. Daerah serapan inframerah beberapa ikatan kimia	16
4. Hasil fermentasi oleh kultur kombucha selama 14 hari	31
5. Nilai WHC pelikel BNC	34
6. Efisiensi produksi BNC	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur selulosa (Granström, 2009)	7
2. Representasi skema jalur biosintesis produksi BNC.....	10
3. Diagram alir penelitian.....	24
4. Stok isolat Kc-T-1, (a) Isolat Kc-T-1 pada media HS agar di cawan petri dan (b) Isolat Kc-T-1 pada media agar miring.....	26
5. Hasil isolasi bakteri dari kombucha menggunakan metode spread plate.....	28
6. Hasil uji GEY	28
7. Hasil fermentasi menggunakan isolat Kc-A-1	29
8. Pelikel BNC pada medium HS-T, (a) Pelikel basah BNC dan (b) Pelikel kering BNC	34
9. Spektrum IR BNC (Avcioglu <i>et al.</i> , 2021)	36
10. Spektrum IR BNC	37
11. Hasil SEM serbuk selulosa bakteri	39
12. Hasil SEM lembaran selulosa bakteri	39
13. Hasil SEM BNC pada perbesaran 10.000× (Halib <i>et al.</i> , 2012)	40
14. Hasil SEM BNC pada perbesaran 20.000× (Halib <i>et al.</i> , 2012)	40
15. Pelikel BNC medium HS-T, (a) Pelikel basah sebelum dicuci, (b) Pelikel basah setelah dicuci, dan (c) Pelikel kering BNC.....	54
16. Pelikel BNC medium HS standar, (a) Pelikel basah sebelum dicuci, (b) Pelikel basah setelah dicuci, dan (c) Pelikel kering BNC.....	54

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selulosa adalah polisakarida yang tersusun dari rantai panjang molekul glukosa yang dihubungkan oleh ikatan β -1,4-glikosidik. Selulosa termasuk polimer alam yang paling melimpah, biokompatibel, dan ramah lingkungan karena mudah terdegradasi, tidak beracun, serta dapat diperbarui (Mulyadi, 2019). Selulosa juga memiliki sifat yang menarik, seperti: densitas yang rendah, modulus tinggi, kekuatan yang tinggi, hanya mengalami sedikit kerusakan saat proses, dan harganya relatif murah (Rohaeti, 2020). Mikro dan nanoselulosa adalah ukuran selulosa yang umum digunakan dalam aplikasi industri. Nanoselulosa sendiri dapat diklasifikasikan dalam tiga jenis, yakni: (1) *nanofibrillated cellulose* (NFC); (2) *nanocrystalline cellulose* (NCC); dan (3) *bacterial nanocellulose* (BNC), juga dikenal sebagai selulosa mikroba atau bioselulosa. Ukuran nanoselulosa berkisar antara 5 nm hingga 100 nm (Abdoulhdi *et al.*, 2021).

BNC dapat diproduksi dari suatu mikroba seperti bakteri genus *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Sarcina*, *Salmonella*, *Escherichia*, dan *Rhizobium* (Corujo *et al.*, 2016). 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 adalah selulosa berukuran nano yang diproduksi oleh mikroorganisme tertentu sebagai eksopolisakarida dari β -D glukopiranos. Kapasitas menahan air dan morfologi struktur nanonya, mirip dengan matriks ekstraseluler protein yaitu kolagen, membuat BNC sangat kompatibel untuk imobilisasi seluler dan adhesi (Sharma and Bhardwaj, 2019). BNC memiliki kemurnian tinggi karena tidak mengandung lignin, hemiselulosa, dan pektin, sehingga memungkinkan tingkat

polimerisasi dan kristalisasi yang lebih tinggi. Berdasarkan sifat-sifat tersebut, BNC telah digunakan, dalam bidang medis untuk pembuatan perban (Moradali *and* Rehm, 2020). Modulus Young pada BNC sangat tinggi sehingga memiliki kemampuan luar biasa untuk mempertahankan bentuknya. Ia juga mempunyai transmisi suara berkecepatan tinggi pada rentang frekuensi yang luas. Karakter ini memungkinkan penggunaan BNC sebagai diafragma pada *speaker* dan *headphone*. Selain itu, BNC juga telah digunakan dalam industri kertas, karena penambahan BNC dalam jumlah tertentu ke dalam bubur kertas memungkinkan untuk menghasilkan kertas berkualitas tinggi dengan kekuatan tarik yang lebih baik dan ketahanan lipat empat hingga lima kali lebih baik. BNC juga telah dikomersialkan di berbagai bidang seperti industri makanan, tekstil, pertanian, dan kosmetik (Wang *et al.*, 2019).

Medium pertumbuhan mikroba yang biasa digunakan untuk memproduksi BNC adalah medium Hestrin-Schramm (HS) yang mengandung glukosa, *yeast extract*, pepton, asam sitrat, dan Na_2HPO_4 . Penggunaan glukosa komersial dalam produksi BNC dinilai kurang ekonomis karena harganya relatif mahal. Banyak limbah pertanian dan industri telah diselidiki untuk produksi BNC, termasuk sisa pohon jambu mete, sisa penggilingan zaitun kering, bubuk konjak, kulit padi, kulit gandum, sekam, kopi, limbah ragi bir, dan molase (Abol-Fotouh *et al.*, 2020; Tyagi *and* Suresh, 2015). Pemanfaatan limbah yang paling populer untuk memproduksi BNC adalah dengan penggunaan molase atau tetes tebu sebagai alternatif pengganti substrat karbon. Machado *et al.* (2018) melaporkan bahwa penggunaan molase pada medium kultur BNC mampu mengurangi biaya produksi dengan cukup signifikan dari 7,35% menjadi 20,06% jika dibandingkan dengan media kultur HS dan glukosa. Berdasarkan hal tersebut, penggunaan medium molase adalah salah satu cara yang tepat untuk proses eskalasi produksi BNC. Hal itu didukung dengan banyaknya jumlah produksi tebu di Lampung yaitu rata-rata 710,3 ton per tahun (Kementerian Pertanian, 2022). Tingginya jumlah produksi tebu tentu saja menghasilkan jumlah molase yang tinggi sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan dalam produksi BNC.

Azizah (2022) telah berhasil mengisolasi mikroba penghasil BNC dari kombucha yang diberi nama Kc-T-1. Isolat tunggal tersebut mampu menghasilkan indeks halo sebesar 2,2 dan pelikel kering BNC sebanyak 10 g L⁻¹. Kondisi optimum produksi BNC oleh isolat Kc-T-1 adalah pada medium HS termodifikasi, yaitu medium HS dengan glukosa yang diganti molase 6% Brix sebagai sumber karbon.

Gullo *et al.* (2018) menyatakan bahwa penggunaan isolat tunggal dalam produksi BNC memiliki beberapa kelemahan, khususnya terkait dengan produktivitas yang rendah dan kestabilan produksi yang kurang optimal. Isolat tunggal cenderung memerlukan kondisi lingkungan yang sangat spesifik untuk mempertahankan kemampuan produksinya. Perubahan kecil dalam parameter produksi, seperti pH, suhu, atau komposisi nutrisi, dapat berdampak signifikan terhadap hasil produksi BNC. Untuk mengatasi keterbatasan ini, penggunaan konsorsium mikroba mulai banyak dikembangkan, karena mampu meningkatkan produktivitas dan ketahanan proses terhadap variasi lingkungan melalui interaksi sinergis antar mikroorganisme.

Keterbatasan produksi BNC menggunakan isolat tunggal menunjukkan perlunya pendekatan alternatif yang lebih adaptif dan produktif. Salah satu pendekatan yang berpotensi meningkatkan hasil produksi adalah melalui penggunaan konsorsium mikroba, yang memiliki keunggulan dalam kerja sama metabolisme dan ketahanan lingkungan. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini dilakukan untuk memproduksi BNC menggunakan isolat tunggal dan konsorsium mikroba, untuk mengetahui efektivitas keduanya dalam menghasilkan BNC secara optimal.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. mengetahui pengaruh isolat tunggal dan konsorsium dalam produksi BNC;
2. mengevaluasi efektivitas molase sebagai sumber karbon alternatif dalam produksi BNC; dan
3. mengetahui karakteristik pelikel BNC dengan menggunakan FTIR dan SEM.

1.3 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memperluas wawasan para pembaca dan mahasiswa mengenai kondisi optimum produksi BNC serta dapat dijadikan sebagai referensi untuk penelitian BNC lebih lanjut.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Selulosa

2.1.1 Pengertian Selulosa

Selulosa adalah polimer alami dengan formula $(C_6H_{10}O_5)_n$ yang terbentuk dari molekul-molekul kecil yang saling terhubung. Molekul-molekul kecil tersebut adalah gula, β -D-glukosa. Gula yang saling terhubung menghasilkan disakarida yang dikenal sebagai *cellobiose*. Selulosa merupakan substansi yang tidak larut dalam air yang terdapat di dalam dinding sel tanaman terutama dari bagian batang, tangkai dan semua bagian yang mengandung kayu. Molekul selulosa berbentuk linear sehingga menyebabkannya bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Selulosa tidak mudah didegradasi secara kimia maupun mekanis. Di alam, selulosa berasosiasi dengan polisakarida lain seperti hemiselulosa dan lignin membentuk kerangka utama dinding sel tumbuhan (Gian *et al.*, 2017).

Keberadaan selulosa di alam sangat melimpah yang sebagian besar ditemukan di tumbuhan tingkat tinggi seperti pohon juga protozoa, alga, dan bakteri. Berbagai bentuk selulosa memiliki banyak kegunaan seperti pengganti lemak dan bahan pengembang dalam makanan rendah kalori, seperti pengubah tekstur, pemanjangan, dan pengemulsi. Dalam produk makanan, selulosa diperoleh sebagai pulp dari bahan berserat seperti kayu atau kapas dan dapat digunakan sebagai aplikasi farmasi penguat untuk matriks polimer hidrofobik, implan biomedis, dan komposit material (Suryanto, 2017).

2.1.2 Struktur Selulosa

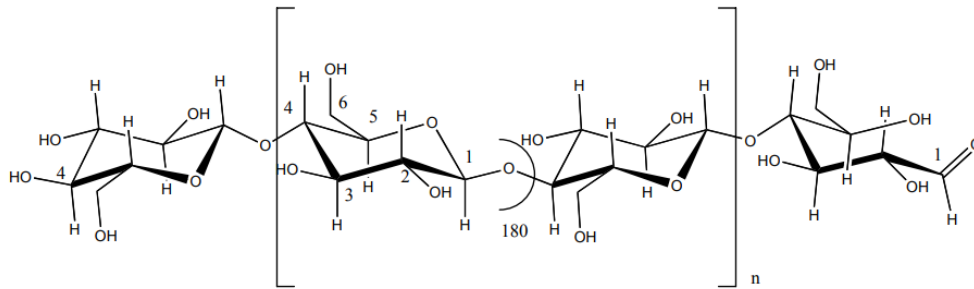
Selulosa ($C_6H_{10}O_5$)_n tersusun atas unit β -D-glukopiranososa yang tergabung melalui ikatan (1,4)-glikosida, dimana n merupakan derajat polimerisasi selulosa (DP).

Selulosa tahan terhadap perlakuan menggunakan bahan kimia, kecuali asam kuat karena adanya ikatan hidrogen antargugus hidroksil dalam rantai selulosa.

Selulosa mengandung karbon (44,44%), hidrogen (6,17%), dan oksigen (49,39%).

Pada umumnya, kandungan selulosa berkisar ~40-50% dari berat kering bahan berlignoselulosa. Variasi kandungan selulosa ini dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti lingkungan tumbuhnya, jenis biomassa, umur tumbuhan, dan letak dalam batang tumbuhan. Perbedaan itulah yang akan menentukan struktur morfologi, dimensi, dan metode isolasi selulosa (Fatriasari *et al.*, 2019).

Dalam keadaan padat, unit anhidroglukopiranososa (AGU) diputar sebesar 180° terhadap satu sama lain karena adanya ikatan β . Masing-masing unit AGU memiliki tiga gugus hidroksil (OH) pada posisi C-2, C-3, dan C-6. Kelompok terminal di salah satu ujung molekul selulosa sangat berbeda sifatnya satu sama lain. C-1 OH di salah satu ujung molekul adalah gugus aldehida dengan aktivitas pereduksi. Gugus aldehida membentuk cincin piranososa melalui bentuk hemiasetal intramolekul. Sebaliknya, C-4 OH pada ujung lain dari rantai adalah konstituen OH yang mengandung alkohol dan dengan demikian disebut non-pereduksi akhir. Hal ini telah diketahui dari spektroskopi inframerah (IR), kristalografi sinar-X dan investigasi resonansi magnetik nuklir (NMR), bahwa cincin AGU ada dalam piranososa bentuk cincin dan bahwa ini mengadopsi 4 formasi kursi C1 yang merupakan energi terendah (Granström, 2009). Konformasi untuk D-glukopiranososa dapat dilihat pada Gambar 1:



Gambar 1. Struktur selulosa (Granström, 2009)

2.1.3 Sumber Selulosa

2.1.3.1 Selulosa Tanaman

Tanaman merupakan sumber utama selulosa yang keberadaannya sangat melimpah di alam. Bahan yang mengandung selulosa diantaranya adalah kayu, residu pertanian, tanaman air, rumput kapas, dan zat tanaman lainnya (Amrillah *et al.*, 2022). Pada tanaman, selulosa ditemukan di dinding sel yang berfungsi sebagai pelindung, terutama pada bagian-bagian tanaman yang berkayu seperti tangkai, batang, dan dahan. Selulosa merupakan polisakarida struktural ekstraseluler yang paling melimpah dibandingkan biomolekul lain, baik pada tumbuhan maupun hewan (Handayani, 2010).

Sebagai polisakarida linier, selulosa bersifat kristalin, tidak larut dalam air, serta memiliki ketahanan tinggi terhadap degradasi kimia dan mekanis. Di alam, selulosa umumnya berasosiasi dengan hemiselulosa dan lignin membentuk matriks struktural utama dinding sel tumbuhan. Struktur tersebut berkontribusi dalam memberikan kekuatan mekanik pada serat tanaman. Selain itu, selulosa memiliki potensi aplikasi luas, termasuk sebagai bahan insulasi termal dan penyerap suara (Pradana *et al.*, 2017).

Selulosa yang berasal dari tanaman tidak pernah tersedia dalam bentuk yang murni, melainkan masih berupa lignoselulosa, hemiselulosa, lignin dan pektin. Sehingga perlu perlakuan khusus untuk dapat mengisolasi selulosa dari tanaman, misalnya pemisahan senyawa lain dengan bantuan alkali atau yang dikenal dengan metode hidrolisis alkali (Gea, 2010). Kandungan selulosa dalam berbagai tanaman dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan selulosa dalam berbagai tanaman

Sumber	Selulosa (%)
Kapas	95-99
Rami	80-90
Bambu	40-50
Kayu	40-50
Kulit Kayu	20-30
Lumut	25-30
Tanaman Ekor Kuda	20-25

(Widia *and* Wathoni, 2017)

2.1.3.2 Selulosa Bakteri

Selain ditemukan alami pada tanaman, selulosa dapat juga diproduksi oleh bakteri. Selulosa tumbuhan dan selulosa bakteri memiliki struktur kimia yang sama, namun sifat fisik dan kimianya berbeda. Salah satu keunggulan selulosa bakteri adalah kemurniannya yang tinggi jika dibandingkan dengan selulosa tumbuhan yang menghasilkan lignin dan produk hemiselulosa lainnya (Nurjannah *et al.*, 2020).

Selulosa bakteri merupakan selulosa hasil sekresi bakteri. Untaian benang-benang selulosa yang terhubung membentuk membran selulosa. Membran selulosa diproduksi sebagai usaha agar bakteri aerob selalu berada pada permukaan media dan dapat melindungi diri dari sinar ultraviolet (Iguchi *et al.*, 2000). Jenis bakteri yang banyak digunakan untuk menghasilkan selulosa bakteri adalah *Acetobacter sp.*. Selulosa dari aktivitas bakteri ini mempunyai banyak keunggulan dibandingkan selulosa dari tanaman. Keunggulan tersebut diantaranya tidak memiliki komponen hemiselulosa sehingga mempunyai derajat kristalinitas yang tinggi (hingga 85%) (Joonobi *et al.*, 2015), elastisitas dapat mencapai 114 Gpa, densitas rendah, daya serap air mencapai 99%, biokompatibel dan struktur kristal yang mudah dibentuk dengan pendekatan *in situ* saat proses polimerisasi bakteri (Castro *et al.*, 2015).

2.2 Nanoselulosa

Berdasarkan ukurannya, selulosa dapat dibedakan menjadi mikro dan nanoselulosa. Ukuran nanoselulosa berkisar antara 5-100 nm. Nanoselulosa semakin diminati untuk berbagai aplikasi di bidang ilmu material dan teknik biomedis. Hal tersebut disebabkan oleh sifatnya yang terbarukan, bentuk anisotropik, sifat mekanik yang sangat baik, biokompatibilitas yang baik, permukaan yang dapat disesuaikan, dan sifat optik yang menarik (Abitbol *et al.*, 2016). Karena sifat yang dimilikinya, selulosa telah digunakan sebagai bahan pengemasan, perbaikan jaringan, penghantaran obat, dan sebagai pengemulsi dalam industri makanan, farmasi, kosmetik, dan bensin.

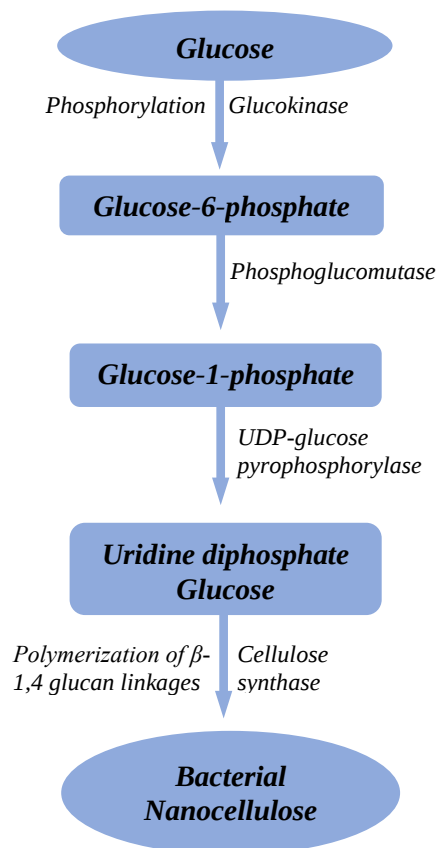
Nanoselulosa dapat dikategorikan ke dalam tiga jenis, yakni: (1) selulosa nanofibrilasi (NFC); (2) selulosa nanokristalin (NCC); dan (3) nanoselulosa bakteri (BNC), juga dikenal sebagai selulosa mikroba atau bioselulosa. Sumber NFC adalah kayu, bit gula, umbi kentang, dan rami. rata-ratanya adalah 20–50 nm. Sementara itu, untuk selulosa NCC, kisaran rata-rata diameter dan panjang NCC masing-masing adalah 5–70 nm dan 100 nm. NCC dapat diekstraksi dari beberapa sumber seperti tanaman (kayu, kapas, ganja rami, flaks, jerami gandum, kulit murbei, *avicel*, dan *tunicin*), alga dan bakteri, serta hewan (*tunicates*) (Abdoulhdi *et al.*, 2021). Jenis nanoselulosa lain yakni BNC dapat diproduksi dari suatu mikroba seperti bakteri genus *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Sarcina*, *Salmonella*, *Escherichia*, dan *Rhizobium* (Corujo *et al.*, 2016).

2.3 Bacterial Nanocellulose (BNC)

BNC merupakan biopolimer alami (Sharma and Bhardwaj, 2019) yang dapat dikategorikan sebagai nanomaterial selulosa (Park *et al.*, 2014). BNC termasuk selulosa murni yang mempunyai derajat polimerisasi relatif tinggi dibandingkan dengan selulosa dari tanaman, yaitu mencapai 2.000 sampai 6.000, sehingga mempunyai kapasitas menahan air lebih tinggi. BNC adalah polimer linier glukosa berbentuk kristalin yang disintesis oleh bakteri seperti *Gluconacetobacter xylinus* (Gatenholm and Klemm, 2010), *Acetobacter xylinum*, *Acanthamoeba*,

Achromobacter, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Sarcina*, dan *Zooglea* dalam proses fermentasi cuka atau pembusukan buah (Skocaj, 2019). BNC memiliki kemurnian tinggi, kristalinitas tinggi, kapasitas menyerap air yang tinggi, *biodegradable*, struktur jaringan *nanofibrous*, dan biokompatibilitas yang baik (Suryanto, 2017).

Jalur biosintesis untuk produksi BNC melibatkan 4 tahapan enzimatik utama seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2: (i) konversi glukosa menjadi glukosa-6-fosfat melalui fosforilasi menggunakan glukokinase; (ii) produksi isomer glukosa-1-fosfat dari glukosa-6-fosfat oleh fosfoglukomutase; (iii) produksi glukosa uridin difosfat (UDP-Glc) dari glukosa-1-fosfat menggunakan UDP-glukosa pirofosforilase; dan (iv) terakhir, produksi selulosa melalui polimerisasi UDP-glukosa melalui ikatan β -1,4 glukukan dengan adanya selulosa sintase (Reshmy *et al.*, 2021).



Gambar 2. Representasi skema jalur biosintesis produksi BNC (Reshmy *et al.*, 2021)

Pemanfaatan BNC sangat beragam yang berdasarkan pada sifat unik yang dimilikinya, seperti kekuatan mekanik yang tinggi, biodegradabilitas, biokompatibilitas, dan kemampuan penyerapan air yang baik. Berbagai sifat BNC dan pemanfaatannya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Sifat BNC terhadap aplikasinya

No	Sifat	Aplikasi
1	Daya serap dan kekuatan serat	Untuk pembalut berbasis kertas
2	<i>Wet strength</i> —kemampuan menahan suhu ekstrem	Khususnya untuk pelabelan sebagai perekat pada label yang ditempelkan pada sampel klinis seperti darah, yang harus dapat tetap aktif dalam suhu rendah ketika sampel sering ditempatkan di dalam <i>freezer</i> yang dalam
3	Kestabilan—untuk menghindari reaksi antara bahan kimia dalam kertas dan pengemasan produk	Berguna dalam mengemas obat-obatan dan instrumen bedah
4	Ketahanan terhadap suhu tinggi	Sterilisasi yang mudah dengan radiasi gamma atau uap; berguna untuk mengemas peralatan steril
5	Biokompatibilitas—tidak menyebabkan toksisitas saat bersentuhan dengan jaringan hidup	Properti yang cocok untuk untuk membuat membuat implan berbasis nanoselulosa, pembalut luka, masker wajah, popok berbasis selulosa
6	Kemampuan terurai secara alami	Sangat membantu dalam membuat perancah karena perancah harus terdegradasi di dalam tubuh saat pembentukan matriks ekstraseluler asli terjadi
7	Kekuatan mekanik	Sifat mekanik yang sangat tinggi membuat BNC cocok untuk berbagai bantalan beban elemen untuk berbagai aplikasi, seperti dalam implan rekayasa jaringan tulang
8	Kemampuan proses nanoselulosa yang berorientasi pada aplikasi – dapat dengan mudah difungsikan untuk penggunaan untuk penggunaan akhir yang berbeda; dapat dibentuk sesuai bentuk dan ukuran yang diinginkan	Peningkatan sifat penghalang, sifat mekanik, permeabilitas udara, daya serap terhadap minyak, sifat antimikroba memungkinkan fungsionalisasi BNC untuk berbagai aplikasi. Kertas biasa dari lignoselulosa tidak menyediakan penghalang minyak, air, oksigen yang cukup, sementara kemasan berbasis BNC dapat mengatasi hambatan ini

(Sharma and Bhardwaj, 2019)

2.4 Faktor yang Mempengaruhi Produksi BNC

BNC yang diproduksi oleh bakteri dipengaruhi oleh sejumlah faktor, yaitu medium pertumbuhan, kondisi lingkungan, dan pembentukan produk sampingan. Nutrisi penting yang dibutuhkan bakteri *Gluconacetobacter xylinus* dalam medium produksi selulosa adalah karbon, nitrogen, serta makro dan mikronutrien lainnya seperti fosfor, sulfur, kalium, magnesium, dan vitamin. Faktor lingkungan yang mempengaruhi produksi selulosa adalah pH, temperatur, dan ketersediaan oksigen. Kondisi optimal produksi selulosa oleh *Gluconacetobacter xylinus* adalah pada kisaran pH 4-6 dan suhu 28-30°C. Produksi selulosa juga dipengaruhi oleh kondisi bakteri yang digunakan, seperti umur bakteri dalam inokulum dan jumlah inokulum yang digunakan sebagai starter dalam produksi selulosa (Sarkono *et al.*, 2012).

Selain faktor medium dan lingkungan, komposisi mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi juga berperan penting dalam menentukan keberhasilan produksi BNC. Jenis bakteri, baik isolat tunggal maupun konsorsium, memiliki kemampuan metabolik yang berbeda dalam mengonversi substrat menjadi selulosa. Isolat tunggal biasanya memiliki jalur metabolisme yang lebih spesifik, sedangkan konsorsium mikroba menawarkan keunggulan melalui kerja sama antar spesies yang dapat meningkatkan efisiensi pemanfaatan nutrisi, mempercepat sintesis selulosa, dan menghasilkan produk dengan karakteristik fisik yang lebih baik (Jiang *et al.*, 2017). Sebagai contoh, penelitian oleh Tyagi and Suresh (2015) menunjukkan bahwa penggunaan konsorsium mikroba dalam produksi BNC dapat meningkatkan hasil produksi dan kualitas produk dibandingkan dengan penggunaan isolat tunggal.

2.5 Kombucha

Kombucha adalah nama umum yang diberikan untuk minuman manis beralkohol ringan yang dihasilkan dari fermentasi daun teh hitam. Kadang-kadang daun teh hijau atau teh *oolong* juga digunakan. Minuman ini berasal dari Cina Timur Laut. Fermentasi dilakukan dengan *Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast* (SCOBY) dalam media yang mengandung ekstrak teh dan sumber gula selama 7-10 hari.

Setelah fermentasi, terbentuk selulosa mengambang pada permukaan atas medium teh yang dihasilkan oleh bakteri yang ada dalam kultur simbiotik dan kaldu teh cair di bawahnya. Dalam kultur ini, etanol anaerob difermentasi oleh khamir, sedangkan fermentasi asam organik dan oksidasi etanol aerobik menjadi asetat dilakukan oleh bakteri (Amarasekara *et al.*, 2020).

Kultur kombucha mengandung berbagai konsorsium termasuk bakteri dan khamir. Bakteri yang diisolasi dari kultur kombucha adalah *Acetobacter sp.*, *Aerobacter sp.*, *Agrobacterium sp.*, *Azotobacter sp.*, *Bacterium gluconicum*, *Gluconacetobacter sp.*, *Komagataeibacter sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Salmonella sp.*, *Oenococcus oeni* dan khamir yang meliputi *Brettanomyces sp.*, *Candida fomatata*, *Dekkara sp.*, *Kloeckera sp.*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces sp.*, *Saccharomycoides sp.*, *Pichia sp.*, *Pichia membranofaciens*, dan *Zygosaccharomyces sp.* (Avcioglu *et al.*, 2021).

Telah dilaporkan bahwa hubungan simbiosis antara bakteri asam asetat dan *yeast* meningkatkan produksi hasil selulosa karena metabolisme mikroba yang sinergis. *Symbiotic Community of Bacteria and Yeast* (SCOBY) kombucha yang terdiri dari bakteri dan khamir melibatkan interaksi kooperatif dan kompetitif, tetapi secara keseluruhan merupakan simbiosis yang menguntungkan bagi bakteri dan khamir. Khamir menghasilkan enzim invertase yang melepaskan monosakarida ke media yang dapat diakses oleh mikroba sebagai sumber karbon. Bakteri dengan cepat memetabolisme gula yang dilepaskan sehingga terjadi penipisan monosakarida di medium, yang pada akhirnya meningkatkan frekuensi khamir yang memproduksi invertase. Secara bersamaan, bakteri menghasilkan asam organik dan lapisan pada permukaan yang melindungi dari pesaing atau kontaminan eksternal, masing-masing melalui pengasaman media dan penghalang fisik. Selain itu, etanol yang diproduksi oleh khamir merangsang mekanisme selulosa-sintase bakteri untuk menghasilkan lapisan selulosa. Interaksi sinergis pada ekosistem kombucha ini memunculkan peluang yang sangat baik untuk mendapatkan BNC (Tapias *et al.*, 2022).

2.6 Molase

Pabrik gula tebu selain menghasilkan produk utama berupa gula, juga menghasilkan molase atau tetes tebu sebagai produk sampingnya. Molase telah diketahui dapat diubah menjadi etanol karena masih mengandung gula sederhana (Hartina *et al.*, 2014). Kandungan gula molase terutama sukrosa berkisar 48 – 55%. Menurut sumber lain molase juga mengandung glukosa dan galaktosa 50 – 80%, beberapa mineral seperti fosfor, kalsium, kalium, dan asam organik. Kandungan dalam molase heterogen dan bervariasi berdasarkan pada varietas tebu yang digunakan, lingkungan tumbuh (tanah, iklim, periode kultur), proses produksi, dan efisiensi operasi di pabrik. Berdasarkan kandungannya dapat dikatakan bahwa molase dapat menjadi sumber glukosa alternatif yang baik untuk perkembangbiakan bakteri (Punjungsari, 2017).

Molase merupakan limbah samping dari industri gula yang kaya akan gula sederhana seperti glukosa, fruktosa, dan sukrosa, serta mengandung nutrisi tambahan seperti nitrogen dan vitamin yang esensial bagi pertumbuhan mikroba penghasil selulosa. Penggunaannya sebagai bahan baku dalam produksi BNC menawarkan keuntungan ekonomi yang signifikan, karena harganya jauh lebih rendah dibandingkan glukosa murni. Selain aspek ekonomi, BNC yang dihasilkan dari fermentasi berbasis molase juga memiliki kemurnian tinggi dibandingkan selulosa tanaman, karena tidak memerlukan perlakuan kimia intensif seperti proses *bleaching* atau delignifikasi. Meskipun hasil produksi (*yield*) BNC dari molase sedikit lebih rendah dibandingkan glukosa murni, kualitasnya tetap kompetitif dengan struktur kristalin dominan tipe Ia (~60%), kekuatan mekanik yang baik, dan kapasitas retensi air yang tinggi, mencapai 92% (Tyagi and Suresh, 2015).

2.7 Karakterisasi BNC

Untuk memastikan bahwa material yang dihasilkan merupakan selulosa serta memahami sifat fisik dan kimianya, diperlukan proses karakterisasi. Dua metode umum yang digunakan dalam karakterisasi BNC adalah *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) dan *Scanning Electron Microscopy*

(SEM). FTIR dan SEM menjadi metode yang banyak digunakan karena keduanya mampu memberikan informasi yang saling melengkapi. FTIR dinilai efektif dalam mendeteksi keberadaan gugus fungsi spesifik seperti -OH, -CH, dan C-O, yang merupakan ciri khas dari struktur selulosa, sehingga memungkinkan identifikasi yang cepat dan non-destruktif terhadap komposisi kimia BNC. Sementara itu, SEM memberikan visualisasi rinci mengenai struktur permukaan dan bentuk serat dengan resolusi tinggi, sehingga sangat berguna untuk mengevaluasi morfologi, tingkat kepadatan jaringan, serta ukuran diameter serat yang menjadi penentu dalam klasifikasinya sebagai nanoselulosa. Kombinasi kedua metode ini memberikan gambaran menyeluruh terhadap struktur dan sifat material, sehingga menjadi pendekatan yang tepat dalam karakterisasi BNC.

2.7.1 *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*

Spektroskopi mempelajari interaksi radiasi elektromagnetik dan unsur kimia, serta interaksi rangsangan elektronik, getaran molekul, atau orientasi putaran nuklir. Salah satu jenis spektroskopi adalah spektroskopi infra merah (IR) atau *Fourier Transform Infrared spectroscopy* (FTIR). FTIR adalah instrumen yang digunakan untuk memperoleh spektrum inframerah dari penyerapan atau emisi zat padat, cair, atau gas. Spektroskopi ini didasarkan pada vibrasi suatu molekul. Transisi antara tingkat energi getaran (vibrasi) yang berlainan menghasilkan suatu spektrum inframerah. FTIR dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa, mendeteksi gugus fungsi, dan menganalisis campuran dari sampel. Umumnya, FTIR lebih sering digunakan untuk mengidentifikasi senyawa organik, baik secara kuantitatif maupun kualitatif. Pada penelitian kuantitatif, FTIR dipakai untuk mengetahui konsentrasi analit dalam sampel. Sedangkan FTIR pada penelitian kualitatif dimanfaatkan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsional yang terkandung dalam suatu senyawa (Kombongkila *et al.*, 2024). Daerah serapan inframerah beberapa ikatan kimia disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Daerah serapan inframerah beberapa ikatan kimia

Tipe Ikatan	Daerah Serapan (cm⁻¹)
C-C, C-O, C-N	1300-800
C=C, C=O, C=N, N=O	1900-1500
C $\equiv$ C, C $\equiv$ N	2300-2000
C-H, O-H, N-H	3800-2700

(Kombongkila *et al.*, 2024)

Analisis menggunakan FTIR bertujuan untuk mengonfirmasi senyawa yang diperoleh adalah selulosa melalui pengukuran absorbansi radiasi inframerah oleh sampel. Spektra selulosa bakteri yang dihasilkan menunjukkan puncak spektrum pada bilangan gelombang 3276 hingga 3339 cm⁻¹ dikaitkan dengan keberadaan gugus hidroksil (-OH) yang terkait dengan gugus OH *stretching* yang berikatan hidrogen intra dan antar rantai. Sedangkan puncak serapan pada 2925 hingga 2930 cm⁻¹ adalah C-H *stretching* dari CH₂ dari gugus hidroksimetil. Puncak pada bilangan gelombang 1644 cm⁻¹ dan 1421 cm⁻¹ menunjukkan gugus asam karboksilat dan karboksilat. *Stretching vibration* gugus C-O-C eter dan C-O-H dari cincin gula ditandai dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang 1036 cm⁻¹ sedangkan puncak pada bilangan gelombang 1330 cm⁻¹ dikaitkan dengan O-H *in-plane bending* dan 1257 cm⁻¹ dikaitkan dengan C-O *stretching* yang menandakan adanya daerah *crystalline* dalam struktur (Ghozali *et al.*, 2021).

2.7.2 Scanning Electron Microscope (SEM)

SEM adalah instrumen canggih yang banyak digunakan untuk mengamati permukaan material. Elektron berenergi tinggi akan memindai sampel di dalam SEM, lalu elektron/sinar X yang keluar selanjutnya dianalisis. Elektron/sinar-X yang keluar ini memberikan informasi mengenai topografi, morfologi, komposisi, orientasi partikel, dan informasi kristalografi dari suatu bahan. Morfologi menunjukkan bentuk dan ukuran, sedangkan topografi menunjukkan bentuk permukaan suatu objek seperti tekstur, kehalusan atau kekasarannya. Demikian juga, komposisi berarti unsur dan senyawa yang membentuk material, sedangkan kristalografi berarti susunan atom dalam material. SEM adalah peralatan

terkemuka yang mampu mencapai gambar visual rinci dari sebuah partikel dengan kualitas tinggi dan resolusi spasial 1 nm. Perbesaran ini dapat ditingkatkan hingga 300.000 kali (Akhtar *et al.*, 2018).

Kemajuan dalam penggunaan SEM memungkinkan area pemindaian yang luas dan pengumpulan sejumlah besar data untuk memperoleh karakteristik sampel, diantaranya adalah menghitung objek dan mengumpulkan statistik objek, juga untuk mendapatkan citra morfologi ukuran untuk menentukan distribusi ukuran (Septiano *et al.*, 2021). Material selulosa termasuk ke dalam golongan nanoselulosa apabila mempunyai ukuran antara 5 nm hingga 100 nm (Abdoulhdi *et al.*, 2021).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2023 – Maret 2025 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Analisis FTIR dan SEM dilakukan di Unit Pelayanan Akademik Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPA LTSIT) Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet tetes, jarum ose, cawan petri, tabung reaksi, gelas ukur, gelas beaker, Erlenmeyer, bunsen, kapas, kain kasa, mikropipet, pH meter, Refraktometer Brix (0-32%), *hot plate*, neraca digital, autoklaf model S-90N, oven, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF) merek CURMA model 9005-FL, *Scanning Electron Microscope* (SEM) merek Zeiss evo MA10 dibuat di Kanada, dan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) merek Cary 630 Agilent dibuat di California.

Bahan-bahan yang digunakan adalah D-glukosa, pepton, *yeast extract*, asam sitrat, Na_2HPO_4 , agar bubuk, NaOH, akuades, molase, isolat Kc-T-1, dan kultur kombucha dari daerah Tegal.

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.

3.3.2 Pembuatan Medium

Medium yang digunakan adalah medium *Hestrin-Schramm* (HS) Agar, HS cair (HS Standar), dan HS cair termodifikasi (HS-T). Pembuatan medium HS Agar yaitu dengan melarutkan sebanyak 2 g agar bubuk, 2 g glukosa, 0,5 g pepton, 0,5 g *yeast extract*, 0,12 g asam sitrat, dan 0,27 g Na_2HPO_4 ke dalam 100 mL akuades. Media kemudian dipanaskan hingga larut sempurna dan pH diatur menjadi 6,0. Selanjutnya disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Prosedur pembuatan HS cair dan HS-T sama dengan pembuatan medium HS Agar. Hanya saja pada HS cair tidak perlu menggunakan agar. Kemudian pada HS-T tidak menggunakan agar dan glukosa serta penggunaan akuades diganti dengan molase yang mempunyai nilai Brix 6%. Pembuatan larutan molase Brix 6% dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.3 Produksi BNC

Pada penelitian ini, produksi BNC dilakukan menggunakan tiga jenis sumber bakteri yang berbeda, yaitu dua jenis isolat bakteri tunggal dan satu jenis konsorsium mikroba. Isolat tunggal terdiri dari dua strain bakteri asam asetat, sedangkan konsorsium mikroba yang digunakan merupakan kultur kombucha yang mengandung campuran bakteri asam asetat dan khamir. Pendekatan ini dilakukan untuk membandingkan efektivitas antara penggunaan kultur tunggal dan konsorsium dalam meningkatkan hasil dan kualitas struktur BNC.

3.3.3.1 Produksi BNC oleh Isolat Kc-T-1

Isolat Kc-T-1 merupakan isolat tunggal yang diperoleh dari penelitian Azizah (2022) dan disimpan dalam bentuk stok gliserol di Laboratorium Biokimia. Sebelum digunakan dalam produksi BNC, isolat tersebut terlebih dahulu diremajakan untuk mengaktifkan kembali pertumbuhan sel dan memastikan bahwa sel masih hidup dan aktif.

a) Peremajaan Isolat Kc-T-1

Peremajaan berfungsi untuk mengaktifkan kembali sel bakteri yang telah disimpan, memastikan kondisi sel tetap hidup dan aktif secara metabolik sebelum digunakan. Isolat yang mampu menghasilkan BNC ditumbuhkan dalam media HS agar. Stok gliserol beku isolat Kc-T-1 dicairkan terlebih dahulu hingga mencapai suhu ruang. Selanjutnya, sebanyak 100 μ L stok gliserol dipindahkan pada medium HS agar dan ditambahkan 200 μ L larutan salin steril. Kemudian dicampurkan dan diratakan keduanya menggunakan batang L hingga ke seluruh permukaan agar, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Isolat yang tumbuh kemudian dilakukan pemurnian dengan metode *streak plate* pada 4 kuadran dan diinkubasi selama 24 jam.

b) Produksi BNC

Produksi BNC diawali dengan pembuatan inokulum menggunakan 2 ose koloni tunggal hasil peremajaan yang ditumbuhkan ke dalam 10 mL medium HS cair. Inokulum kemudian diinkubasi selama 20 jam pada suhu ruang dengan agitasi 150 rpm untuk mempersiapkan fase pertumbuhan awal sebelum proses fermentasi.

Medium yang digunakan untuk produksi BNC adalah HS cair standar dan HS cair termodifikasi (HS-T) yang menggunakan molase dengan kadar Brix 6% sebagai sumber gula alternatif. Inokulum yang telah dipersiapkan ditambahkan sebanyak 5% (v/v) ke dalam 50 mL medium produksi, kemudian pH disesuaikan pada nilai

6,0. Proses fermentasi dilakukan selama 14 hari pada kondisi statis pada suhu ruang.

3.3.3.2 Produksi BNC oleh Isolat Tunggal dari Kultur Kombucha

a) Isolasi Mikroba dari Kombucha

Sampel kombucha diperoleh dari daerah Tegal. Untuk proses adaptasi kultur, inokulan berupa cairan kombucha dicampurkan dengan medium HS cair, masing-masing sebanyak 10 mL dan 40 mL. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu ruang dalam kondisi statis hingga terbentuk pelikel BNC. Setelah pelikel terbentuk, dilakukan tahap isolasi mikroba menggunakan teknik *spread plate*. Sebanyak 1 mL medium adaptasi dimasukkan ke dalam 9 mL larutan salin steril (0,96%), dihomogenkan, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-5} . Sebanyak 100 μ L suspensi tersebut disebarkan ke permukaan HS agar *plate* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C.

b) Uji GEY (*Glucose, Ethanol, Yeast*)

Setelah melalui tahap skrining, isolat diseleksi lebih lanjut menggunakan medium GEY yang mengandung (2% glukosa, 5% etanol, 1% *yeast extract*, 0,3% CaCO_3 , dan 2% agar) pada suhu 30°C. Selama masa inkubasi 48 jam, akan terbentuk zona bening di sekitar koloni. Zona bening terbentuk akibat dari proses pemecahan molekul glukosa yang telah dilakukan oleh bakteri akibat dari proses metabolisme sel bakteri secara ekstraseluler. Koloni bakteri dan zona bening yang terbentuk diukur untuk selanjutnya dihitung indeks selulosa yang diperoleh dari isolat tersebut. Isolat dengan indeks halo terbesar kemudian disimpan sebagai stok.

c) Produksi BNC

Isolat terpilih hasil dari Uji GEY selanjutnya digunakan untuk produksi BNC. Tahapan awal yaitu membuat inokulum dengan cara mengambil sebanyak 2 ose isolat kemudian memasukkannya ke dalam 20 mL medium HS cair. Campuran tersebut diinkubasi selama 20 jam pada *orbital shaker* dengan kecepatan 150 rpm. Hasil inokulum diambil sebanyak 5% (v/v) ke dalam 50 mL medium HS standar

dan HS-T, dengan penyesuaian pH pada 6,0. Selanjutnya difermentasi selama 14 hari dengan kondisi statis.

3.3.3.3 Produksi BNC oleh Konsorsium Kultur Kombucha

Sebanyak 2,5 mL kultur kombucha ditumbuhkan ke dalam 47,5 mL medium HS-T dengan Brix 6%. Kultur kombucha juga ditumbuhkan dalam medium HS standar sebagai pembanding. Selanjutnya dilakukan fermentasi selama 14 hari di suhu ruang dan dalam kondisi statis.

3.3.4 Pengukuran *Water Hold Capacity* (WHC)

Pelikel BNC yang telah terbentuk pada medium fermentasi diambil dan diukur berat basah nya dengan cara ditimbang. Sisa medium yang menempel pada pelikel dibersihkan menggunakan akuades. Pelikel yang telah dibersihkan direndam dalam larutan NaOH 0,1 M pada suhu 100°C selama 30 menit, lalu dicuci beberapa kali menggunakan akuades hingga pH mencapai 7. Selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 48 jam dan ditimbang kembali untuk mengetahui berat keringnya. Pengukuran kandungan air (%w/w) dalam pelikel didasarkan pada kehilangan berat setelah pemanasan. Pengukuran berat air dilakukan untuk mengetahui kadar air dalam pelikel selulosa sehingga dapat diketahui kemampuan selulosa dalam menahan air. Pengukuran kandungan air dapat dihitung menggunakan Persamaan 1:

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

3.3.5 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:

$$\% \text{ konsumsi substrat} = \frac{\text{TS}_i - \text{TS}_f}{\text{TS}_i} \times 100 \quad (2)$$

$$\% \text{ hasil konversi substrat ke BNC} = \frac{\text{BNC} \left(\frac{\text{g}}{\text{L}} \right) \text{at } t_{\text{end}}}{\text{TS}_i - \text{TS}_f} \times 100 \quad (3)$$

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

3.3.6 Karakterisasi BNC

3.3.6.1 *Scanning Electron Microscope (SEM)*

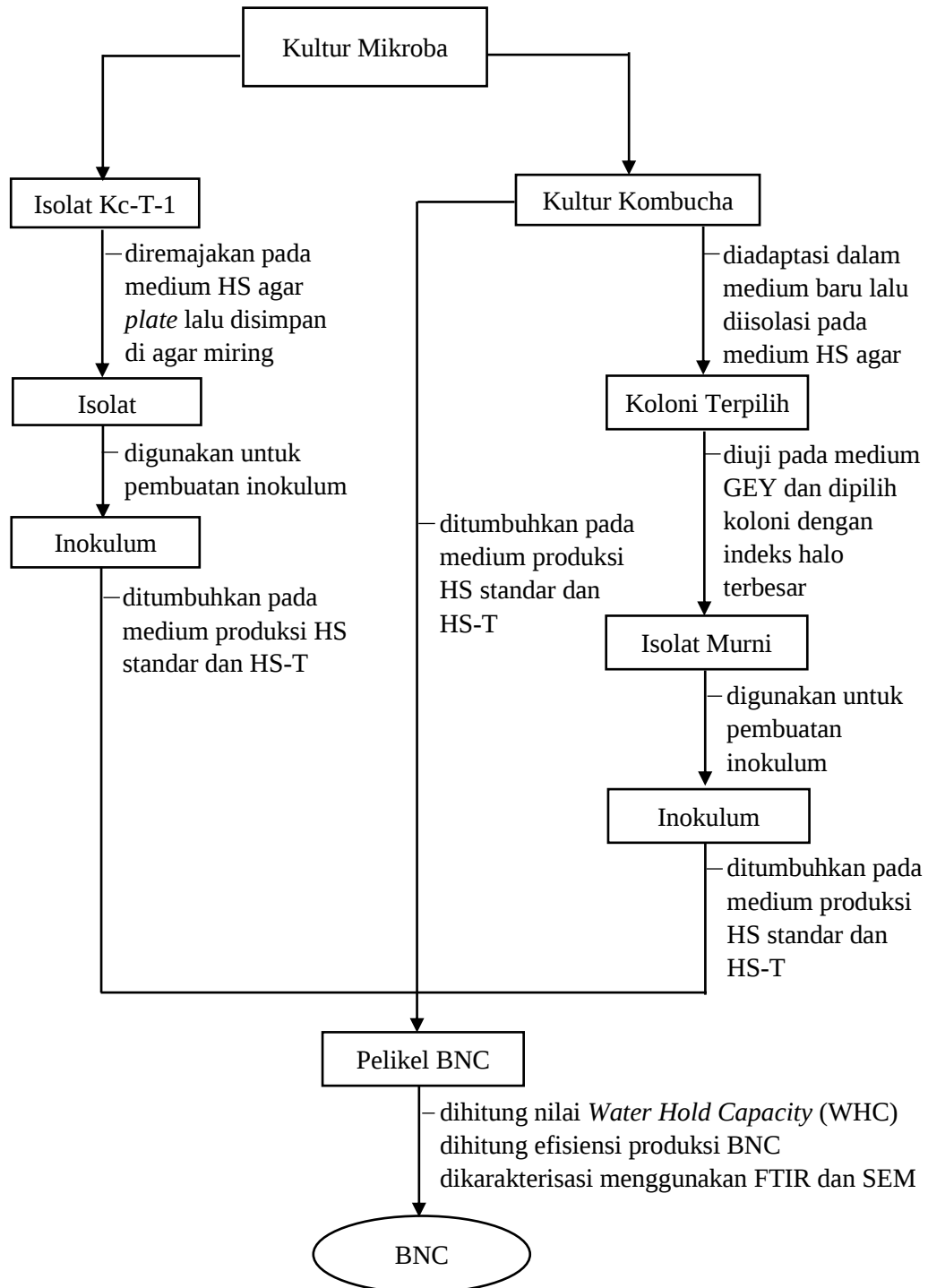
Sampel film selulosa bakteri dikeringkan hingga beratnya konstan. Sampel selanjutnya dipotong kecil sekitar $0,3\text{ cm}^2$. Sampel BNC kemudian dikarakterisasi menggunakan SEM untuk melihat ukuran nano pada morfologi permukaannya.

3.3.6.2 *Fourier Transform Infrared (FTIR)*

Sampel pelikel bakteri nanoselulosa dikeringkan sampai beratnya konstan. Sampel yang telah kering lalu dipotong kecil sekitar $0,3\text{ cm}^2$. Analisis dilakukan dengan FTIR pada *range* spektrum $500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ pada suhu ruang.

3.4 Diagram Alir

Adapun diagram alir pada penelitian ini yaitu:



Gambar 3. Diagram alir penelitian

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

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

1. penggunaan konsorsium mikroba berupa kultur kombucha lebih efektif dalam menghasilkan pelikel BNC dibandingkan dengan penggunaan isolat tunggal Kc-T-1 dan Kc-A-1;
2. medium HS-T lebih unggul dibandingkan HS standar dalam produksi BNC, karena mampu menghasilkan pelikel yang lebih banyak serta kualitas BNC yang lebih baik. Berat kering BNC yang dihasilkan mencapai $4,02 \text{ g L}^{-1}$ dengan nilai WHC sebesar 97,58%;
3. persentase konsumsi substrat pada medium HS-T mencapai 15,49%, dan dari jumlah substrat yang dikonsumsi tersebut, sebesar 36,55%-nya berhasil dikonversi menjadi BNC; dan
4. hasil analisis FTIR dan SEM membuktikan bahwa pelikel yang diperoleh adalah selulosa berukuran nano (52–92 nm), sehingga dapat disebut sebagai *Bacterial Nanocellulose* (BNC).

5.2 Saran

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

1. melakukan *pre-treatment* pada molase sebelum digunakan sebagai medium produksi; dan
2. melakukan fermentasi dengan teknik lainnya, seperti Teknik *Static Intermittent Fed-Batch*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdoulhdi, A., Omran, B., Mohammed, A., Sapuan, S., Ilyas, R., Asyraf, M., Petrů, M. (2021). Micro- and Nanocellulose in Polymer Composite Materials. *Polymers*, 13(231), 1-35.
- Abitbol, T., Rivkin, A., Cao, Y., Nevo, Y., Abraham, E., Ben-Shalom, T., Shoseyov, O. (2016). Nanocellulose, a Tiny Fiber with Huge Applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 39, 76-88.
- Abol-Fotouh, D., Hassan, M., Shokry, H., Roig, A., Azab, M., & Kashyout Abd El-Hady B. (2020). Bacterial Nanocellulose from Agro-industrial Wastes: Low-cost and Enhanced Production by *Komagataeibacter saccharivorans* MD1. *Sci Rep*, 1-14.
- Akhtar, K., Khan, S. A., Khan, S. B., & Abdullah, A. M. (2018). *Scanning Electron Microscopy: Principle and Applications in Nanomaterials Characterization*. New York: Springer International Publishing AG.
- Amarasekara, A., Wang, D., & Grady, T. (2020). A Comparison of Kombucha SCOBY Bacterial Cellulose Purification Methods. *SN Appl Sci*, 2.
- Amrillah, N., Hanum, F., & Rahayu, A. (2022). Studi Efektivitas Metode Ekstraksi Selulosa dari Agricultural Waste. *Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*, 1-8.
- Avcioglu, N. H., Birben, M., & Bilkay, I. S. (2021). Optimization and Physicochemical Characterization of Enhanced Microbial Cellulose Production with a New Kombucha Consortium. *Process Biochemistry*, 108, 60-68.
- Azizah, L. (2022). *Produksi Bacterial Nanocellulose (BNC) Oleh Isolat Lokal Kc-T-1 Asal Kombucha dari Limbah Cair Molase*. Bandar Lampung: Universitas Lampung.
- Bae, S., & Shoda, M. (2004). Bacterial Cellulose Production by Fed-Batch Fermentation in Molasses Medium. *Biotechnol Prog*, 20, 1366–1371.
- Castro, C., Corderio, N., Faria, M., Zuluaga, R., Putuaux, J., Filpponen, I., Ganan, P. (2015). In Situ Glyoxalization During Biosynthesis of Bacterial Cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 32–39.

- Corujo, V., Cerrutti, P., Foresti, M., & Vazquez, A. (2016). *Chapter 2 Production of Bacterial Nanocellulose From Non-Conventional Fermentation Media*. Buinos Aires: William Andrew Publishing.
- Fatriasari, W., Masruchin, N., & Hermiati, E. (2019). *Selulosa: Karakteristik dan Pemanfaatannya*. Jakarta: LIPI Press.
- Gatenholm, P., & Klemm, D. (2010). Bacterial Nanocellulose as a Renewable. *MRS Bulletin*, 35(3), 208–2013.
- Gea, S. (2010). *Innovative Bio-nanocomposites Based on Bacterial Cellulose*. Queen Mary University of London.
- Ghozali, M., Meliana, Y., & Chalid, M. (2021). Synthesis and Characterization of Bacterial Cellulose by Acetobacter. *Materials Today: Proceedings*, 44, 2131–2134.
- Gian, A., Farid, M., & Ardhyanta, H. (2017). Isolasi Selulosa dari Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit untuk Nano Filler Komposit Absorpsi Suara: Analisis FTIR. *Jurnal Teknik ITS*, 6(2), 228-231.
- Granström, M. (2009). *Cellulose Derivatives: Synthesis, Properties and Applications*. Finland: University of Helsinki.
- Gullo, M., China, S. L., Falcone, P. M., & Giudici, P. (2018). Biotechnological Production of Cellulose by Acetic Acid Bacteria: Current State and Perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*, 102(16), 6885–6898.
- Halib, N., Iqbal, M. C., & Amin, M. (2012). Physicochemical Properties and Characterization of Nata de Coco from. *Sains Malaysiana*, 41(2), 205–211.
- Handayani, A. W. (2010). *Penggunaan Selulosa Daun Nanas Sebagai Adsorben Logam Berat Cd(II)*. Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Hartina, F., Jannah, A., & Maunatin, A. (2014). Fermentasi Tetes Tebu dari Pabrik Gula Pagotan Madiun Menggunakan *Saccharomyces Cerevisiae* untuk Menghasilkan Bioetanol Dengan Variasi pH dan Lama Fermentasi. *Alchemy*, 3(1), 93 - 100.
- Iguchi, M., Yamanaka, S., & Budhiono, A. (2000). Bacterial Cellulose - a Masterpiece of Nature's Arts. *Journal of Materials Science*, 35(2), 261–270.
- Jagannath, A., Kalaiselvan, A., Manjunatha, S. S., Raju, P. S., & Bawa, A. S. (2008). The Effect of pH, Sucrose and Ammonium Sulphate Concentrations on the Production of Bacterial Cellulose (Nata-de-Coco) by *Acetobacter xylinum*. *World J Microbiol Biotechnol*, 24, 2593–2599.

- Jiang, L.-L., Zhou, J.-J., Quan, C.-S., & Xiu, Z.-L. (2017). Advances in Industrial Microbiome Based on Microbial Consortium for Biorefinery. *Bioresour Bioprocess*, 4(11), 1-10.
- Joonobi, M., Oladi, R., Davoudpour, Y., Oksman, K., Dufresne, A., Hamzeh, Y., & Davoodi, R. (2015). Different Preparation Methods and Properties of Nanostructured Cellulose from Various Natural Resources and Residues: A Review. *Cellulose*, 22(2), 935–969.
- Kementerian Pertanian. (2022). *Outlook Komoditas Perkebunan Tebu*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian Sekretariat Jenderal - Kementerian Pertanian.
- Kombongkila, O., Taunaumang, H., & Tumimomor, F. (2024). Analisis Struktur Film Tipis Disperse Orange-3 Hasil FTIR. *Jurnal FisTa : Fisika dan Terapannya*, 5(1), 45-50.
- Machado, R., Bagliotti, A., Miguel, R., Faza, D., Antonio, S., Gutierrez, J., Barud, H. (2018). Komagataeibacter rhaeticus Grown in Sugarcane Molasses-Supplemented Culture Medium as a Strategy for Enhancing Bacterial Cellulose Production. *Industrial Crops & Products*, 122.
- Madigan, M., & Martinko, J. (2006). *Brock Biology of Microorganisms Eleventh Edition*. Pearson Prentice Hall.
- Moradali, M., & Rehm, B. (2020). Biopolimer Bakteri: dari Patogenesis Hingga Material Tingkat Lanjut. *Mikrobiol Nat Rev*, 18(4), 195–210.
- Mulyadi, I. (2019). Isolasi dan Karakterisasi Selulosa : Review. *Jurnal Saintika UNPAM*, 1(2), 177-182.
- Nurjannah, N., Sudiarti, T., & Rahmidar, L. (2020). Sintesis dan Karakterisasi Selulosa Termetilasi Sebagai Biokomposit Hidrogel. *al-Kimiya*, 7(1), 19-27.
- Omadjela, O., Narahari, A., Strumillo, J., Mérida, H., Mazur, O., Bulone, V., & Zimmer, J. (2013). BcsA and BcsB form the Catalytically Active Core of Bacterial Cellulose Synthase Sufficient for In Vitro Cellulose Synthesis. *PNAS*, 110(44).
- Park, S., Lee, B., Kim, M., & Sung, W. (2014). The Possibility Of Microbial Cellulose For Dressing And Scaffold Materials. *Int Wound J*, 11, 35-43.
- Pradana, M. A., Ardhyanta, H., & Farid, M. (2017). Pemisahan Selulosa dari Lignin Serat Tandan Kosong Kelapa Sawit dengan Proses Alkalisasi untuk Penguat Bahan Komposit Penyerap Suara. *Jurnal Teknik ITS*, 6(2), 413-416.

- Punjungsari, T. (2017). Pengaruh Molase Terhadap Aktivitas Konsorsium Bakteri Pereduksi Sulfat Dalam Mereduksi Sulfat (SO₄⁻). *VIABEL: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Pertanian*, 11(2), 39-49.
- Rangaswamy, B. E., Vanitha, K. P., & Hungund, B. S. (2015). Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit. *International Journal of Polymer Science*, 1-8.
- Reshmy, R., Philip, E., Thomas, D., Madhavan, A., Sindhu, R., Binod, P., Pandey, A. (2021). Bacterial Nanocellulose: Engineering, Production, and Applications. *Bioengineered*, 12(2), 11463-11483.
- Rohaeti, E. (2020). *Kimia Makromolekul Tekstil Antibakteri*. Yogyakarta: UNY Press.
- Salari, M., Khiabani, M. S., Mokarram, R. R., Ghanbarzadeh, B., & 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.
- Sarkono, Moeljopawiro, S., Setiaji, B., & 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 UNS*.
- Septiano, A. F., Susilo, & Setyaningsih, N. E. (2021). Analisis Citra Hasil Scanning Electron Microscopy Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDX) Komposit Resin Timbal dengan Metode Contrast to Noise Ratio (CNR). *Indonesian Journal of Mathematics and Natural Sciences*, 44(2), 81-85.
- Sharma, C., & Bhardwaj, N. (2019). Bacterial nanocellulose: Present status, biomedical applications and future perspectives. *Materials Science & Engineering: C*, 1-18.
- Singh, O., Panesar, P., & Chopra, H. (2017). Isolation and Characterization of Cellulose Producing Bacterial Isolate from Rotten Grapes. *Biosci Biotech Res Asia*, 14(1).
- Skocaj, M. (2019). Bacterial Nanocellulose in Papermaking. *Cellulose*, 26(11), 6477–6488.
- Suryanto, H. (2017). Analisis Struktur Serat Selulosa dari Bakteri. *Prosiding SNTT*. 3, hal. 17-22. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Tapias, Y. R., Monte, M. V., Peltzer, M., & Salvay, A. (2022). Bacterial Cellulose Films Production by Kombucha Symbiotic Community Cultured on Different Herbal Infusions. *Food Chemistry*, 372.
- Tuttle, A. R., Trahan, N. D., & Son, M. S. (2021). Growth and Maintenance of *Escherichia coli* Laboratory Strains. *Current Protocols*, 1.

- Tyagi, N., & Suresh, S. (2015). Production of Cellulose from Sugarcane Molasses Using *Gluconacetobacter intermedius* SNT-1: Optimization & Characterization. *Journal of Cleaner Production*.
- Ul-Islam, M., Khan, T., & Park, J. K. (2012). Water Holding and Release Properties of Bacterial Cellulose Obtained by in situ and ex situ Modification. *Carbohydrate Polymers*, 88, 596-603.
- Wang , J., Tavakoli , J., & Tang , Y. (2019). Produksi Selulosa Bakteri, Sifat dan Aplikasi dengan Metode Kultur Berbeda – Tinjauan. *Polim Karbohidrat*, 63–76.
- Widia, I., & Wathoni, N. (2017). Riview Artikel Selulosa Mikrokristal : Isolasi, Karakterisasi, dan Aplikasi dalam Bidang Farmasetik. *Farmaka*, 15(2), 127-143.
- Yasa, I., Basuki, E., Saloko, S., & Handito, D. (2020). Sifat Fisik dan Mekanis Lembaran Kering Selulosa Bakteri Berbahan Dasar Limbah Hasil Pertanian. *Jurnal Ilmiah Rekayasa Pertanian dan Biosistem*, 8(1), 89-99.