



**IDENTIFIKASI BAKTERI PENGHASIL BIOSELULOSA DARI  
SUMBER LOKAL DAN KARAKTERISASI PRODUK  
BIOPOLIMERNYA**

*Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana pada  
program studi Farmasi*

**SKRIPSI**

**Oleh:**

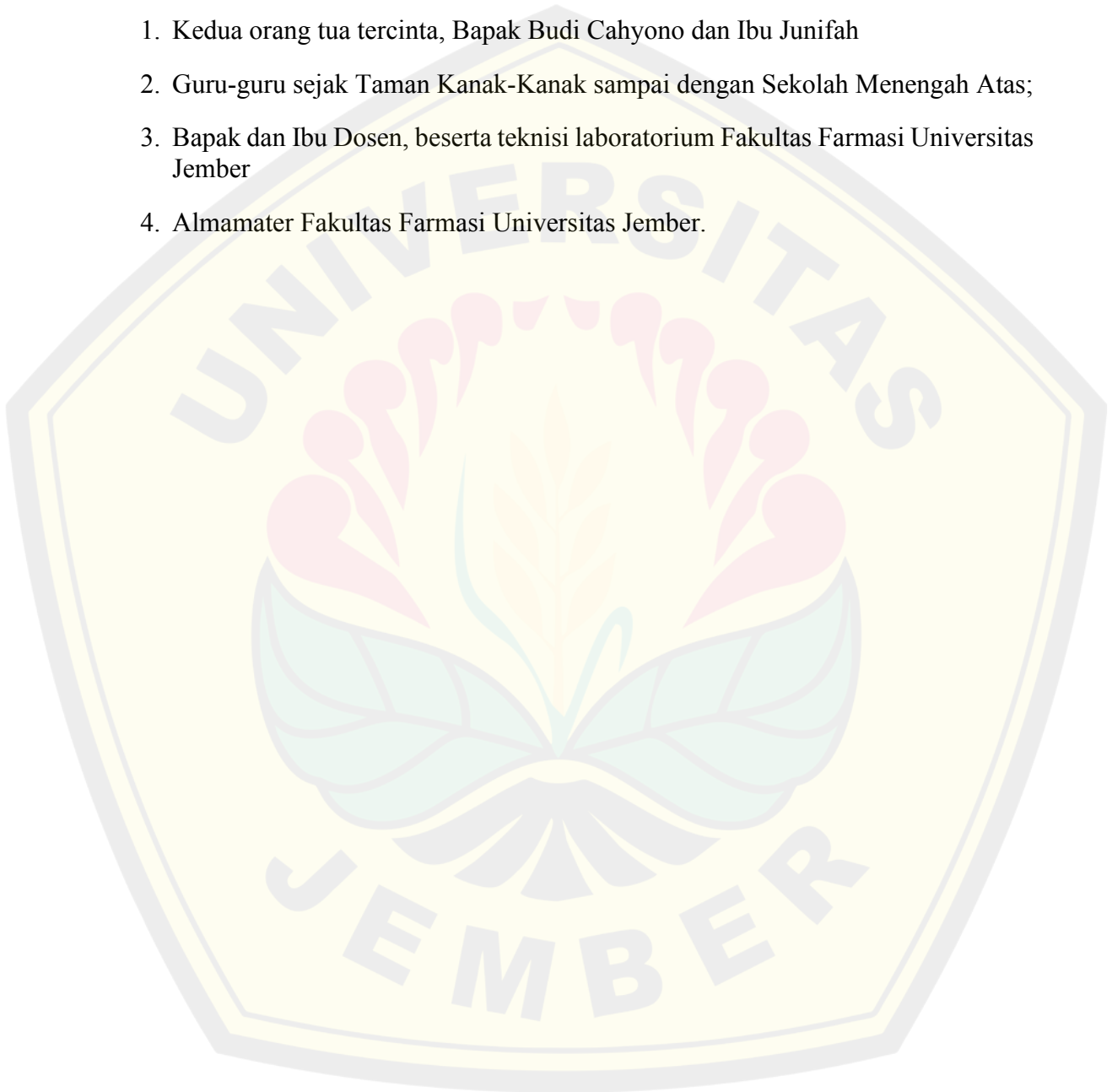
**Putri Valencia Jun  
202210101077**

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS, DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS JEMBER  
FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI FARMASI  
JEMBER  
2025**

**PERSEMBAHAN**

Puji Syukur Kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan berkat-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik. Peneliti mempersembahkan skripsi ini untuk:

1. Kedua orang tua tercinta, Bapak Budi Cahyono dan Ibu Junifah
2. Guru-guru sejak Taman Kanak-Kanak sampai dengan Sekolah Menengah Atas;
3. Bapak dan Ibu Dosen, beserta teknisi laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Jember
4. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.



**MOTTO**

Kenapa kita gagal dan jatuh?  
Supaya kita kuat belajar bagaimana caranya untuk bisa bangkit lagi.

(Alfred Bruce Wayne)



**PERNYATAAN ORISINALITAS**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Putri Valencia Jun

NIM : 202210101077

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul: *Identifikasi Bakteri Penghasil Bioselulosa dari Sumber Lokal dan Karakterisasi Produk Biopolimernya* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 30 Juli 2025

Yang menyatakan,

Putri Valencia Jun

NIM 202210101077

**HALAMAN PERSETUJUAN**

Skripsi berjudul *Identifikasi Bakteri Penghasil Biopolimer dari Sumber Lokal dan Karakterisasi Produk Biopolimernya* telah diuji dan disetujui oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Rabu  
Tanggal : 30 Juli 2025  
Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Pembimbing	Tanda Tangan
1. Pembimbing Utama	
Nama : Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si.	
NIP : 197807282005012001	(.....)
2. Pembimbing Anggota	
Nama : apt. Indah Yulia Ningsih S.Farm., M.Farm.	
NIP : 198407122008122002	(.....)

Penguji	
1. Penguji Utama	
Nama : apt. Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm.	
NIP : 198712082014042002	(.....)
2. Penguji Anggota	
Nama : apt. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc.	
NIP : 198107232006042002	(.....)

Mengetahui,

Dekan

Prof. apt. Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc., MSc-res., Ph.D.  
NIP 197807212003121001

**ABSTRACT**

*Biocellulose (bacterial cellulose, BC) is cellulose produced by bacteria. It has unique characteristics that distinguish it from plant cellulose and has various advantages such as high mechanical strength and water absorption as well as being biocompatible and biodegradable. This study aimed to identify local bacterial isolates (Alsa1) that is capable of producing bacterial cellulose and to determine several factors that can be optimized to influence the production of bacterial cellulose by these isolates. In addition, this research sought to characterize the biopolymer products produced by the local bacterial strains. The findings are expected to contribute to the documentation of bacterial cellulose-producing bacteria in Indonesia and to broaden the readers knowledge and insight regarding the identity of local cellulose-producing bacteria and the mechanisms by which these bacteria synthesize bacterial cellulose. A true experimental laboratory research design was employed. The independent variables were the inoculum concentration and the incubation period, while the dependent variables were the thickness, weight, and mass of the bacterial cellulose produced. Phenotypic identification based on morphological analysis showed that the isolate formed round colonies with a creamy yellowish-white color. Gram staining revealed rod-shaped cells that are Gram-negative. Genotypic identification was carried out through sequencing of the 16S rRNA gene, which indicated that the isolate (Alsa1) has high genetic similarity to *Lactobacillus parafarraginis*. Optimization studies indicated that both the incubation period and the inoculum concentration significantly affected bacterial cellulose production, with the optimal conditions being 10 days of incubation and 15% inoculum concentration. Characterization of the resulting bacterial cellulose showed favorable organoleptic properties, an acidic pH, good swelling index, and moisture content. Furthermore, FTIR and SEM analyses confirmed the quality and authenticity of the bacterial cellulose produced.*

*Keywords: Biocellulose, *Lactobacillus parafarraginis*, Optimization studies and Characterization*

**RINGKASAN**

**Identifikasi Bakteri Penghasil Bioselulosa dari Sumber Lokal dan Karakterisasi Produk Biopolimernya:** Putri Valencia Jun: 202210101077; 2025; 69 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Selulosa adalah salah satu polimer polisakarida yang biasanya diproduksi tanaman sebagai komponen utama dinding sel. Selulosa yang dihasilkan oleh bakteri, dikenal sebagai bioselulosa (*bacterial cellulose*, BC), memiliki karakteristik unik yang membedakannya dari selulosa tumbuhan (Raiszadeh-Jahromi dkk., 2020). Bioselulosa memiliki keunggulan dalam kekuatan mekanik, daya serap air tinggi, sifat biokompatibel dan biodegradabel, serta kemudahan modifikasi struktur. Bioselulosa dimanfaatkan di bidang kesehatan dan farmasi sebagai scaffold jaringan, pembalut luka, dan sistem penghantaran obat. Bioselulosa dapat dimanfaatkan sebagai kulit buatan untuk pasien dengan luka bakar dan borok serta digunakan sebagai pembuluh darah buatan, masker anti-aging, pelembab wajah dan bahan alternatif untuk membuat cangkang kapsul (Potivara dan Phisalaphong, 2019).

Pada penelitian ini digunakan metode *true experimental laboratory* untuk meneliti isolat bakteri lokal (Alsa 1) yang mampu memproduksi bioselulosa. Identifikasi dilakukan untuk mengetahui identitas isolat. Identifikasi isolat bakteri dapat dilakukan secara fenotipik dan genotipik. Identifikasi fenotipik yang dilakukan melalui analisis morfologi dan pewarnaan gram, sedangkan identifikasi genotipik melalui sekuensing gen 16S rRNA (Berlanga, 2014; Cook et al., 2003). Dari identifikasi yang dilakukan diketahui bahwa isolat Alsa1 termasuk bakteri gram negatif yang memiliki kemiripan genetik tinggi dengan *Lactobacillus parafarraginis*.

Produksi bioselulosa dari isolat lokal memiliki berbagai faktor yang mempengaruhinya sehingga dilakukan optimasi. Dari hasil optimasi, diketahui bahwa konsentrasi inokulum dan lama produksi memengaruhi hasil produksi bioselulosa, dengan hasil optimal pada 10 hari inkubasi dan 15% inokulum.

Karakterisasi produk bioselulosa juga dilakukan. Hasilnya menunjukkan bahwa sifat organoleptik bioselulosa dan pH sesuai dengan literatur, indeks pengembangan dan kadar air memenuhi syarat, serta hasil analisis FTIR dan SEM sesuai dengan literatur.



## PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan berkat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Identifikasi Bakteri Penghasil Bioselulosa dari Sumber Lokal dan Karakterisasi Produk Biopolimernya”. Skripsi ini telah disusun untuk memenuhi syarat menyelesaikan studi Strata Satu (S1) pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bimbingan, arahan, serta do'a dari banyak pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. apt. Ari Satia Nugraha, S.F., GDipSc., MSc-res., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember.
2. Ibu Dr. apt. Evi Umayah Ulfa, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu apt. Indah Yulia Ningsih S.Farm., M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah berkenan meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga untuk memberikan bimbingan, masukan serta nasihat kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan
3. Ibu apt. Dewi Dianasari, S.Farm., M.Farm. selaku Dosen Penguji Utama dan Ibu apt. Endah Puspitasari, S.Farm., M.Sc. selaku Dosen Penguji Anggota yang telah bersedia memberikan bimbingan, nasihat, semangat, kritik dan saran untuk perbaikan skripsi ini.
4. Bapak dan Ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah membagikan ilmu pengetahuan kepada penulis selama menempuh Pendidikan sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Jember.
5. Semua teknisi laboratorium Farmasi dan staf karyawan Fakultas Farmasi yang telah memberikan bantuan, arahan, dan sarana pada penulis.

6. Orang tua tersayang, Ayah Budi Cahyono dan Ibu Junifah yang selalu mendoakan, memberikan kasih sayang, nasihat, semangat, dan telah berkorban baik tenaga, pikiran maupun materi dalam memperjuangkan dan mendukung masa depan penulis. Adik yang menemani dan keluarga besar penulis.
7. Orang tua rohani penulis, Kak Benny, Ce Nike beserta keluarga besar dari gereja. Devina Stefani beserta keluarga, Nur Hasanah, dan Fionita atas doa, dukungan motivasi, dan kesediaannya untuk mendengarkan keluh kesah serta mendampingi penulis selama penyusunan skripsi.
8. Teman setim penelitian penulis, Triya Krisdayanti, Alya, dan Lisa atas semua bantuan, pengingat, dan dukungan yang diberikan kepada penulis selama penelitian hingga selesai.
9. Teman-teman sejak Taman Kanak-Kanak sampai dengan Perguruan Tinggi serta teman-teman skripsi bagian biologi, atas bantuan dan kebersamaannya
10. Seluruh pihak yang tidak dapat dituliskan satu persatu, yang turut membantu proses penyusunan skripsi ini.

Hanya ucapan terimakasih yang dapat penulis ucapkan atas segala dukungan dan bantuan yang telah diberikan. Semoga Tuhan Yang Maha Esa membalas kebaikan semuanya. Penulis menyadari bahwa penulisan dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, sehingga penulis menerima segala bentuk kritik dan saran yang membangun demi menyempurnakan skripsi ini. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat menjadi manfaat bagi pembaca maupun penelitian selanjutnya guna menyempurnakan perkembangan ilmu pengetahuan pada masa mendatang.

Jember, 30 Juli 2025

Penulis

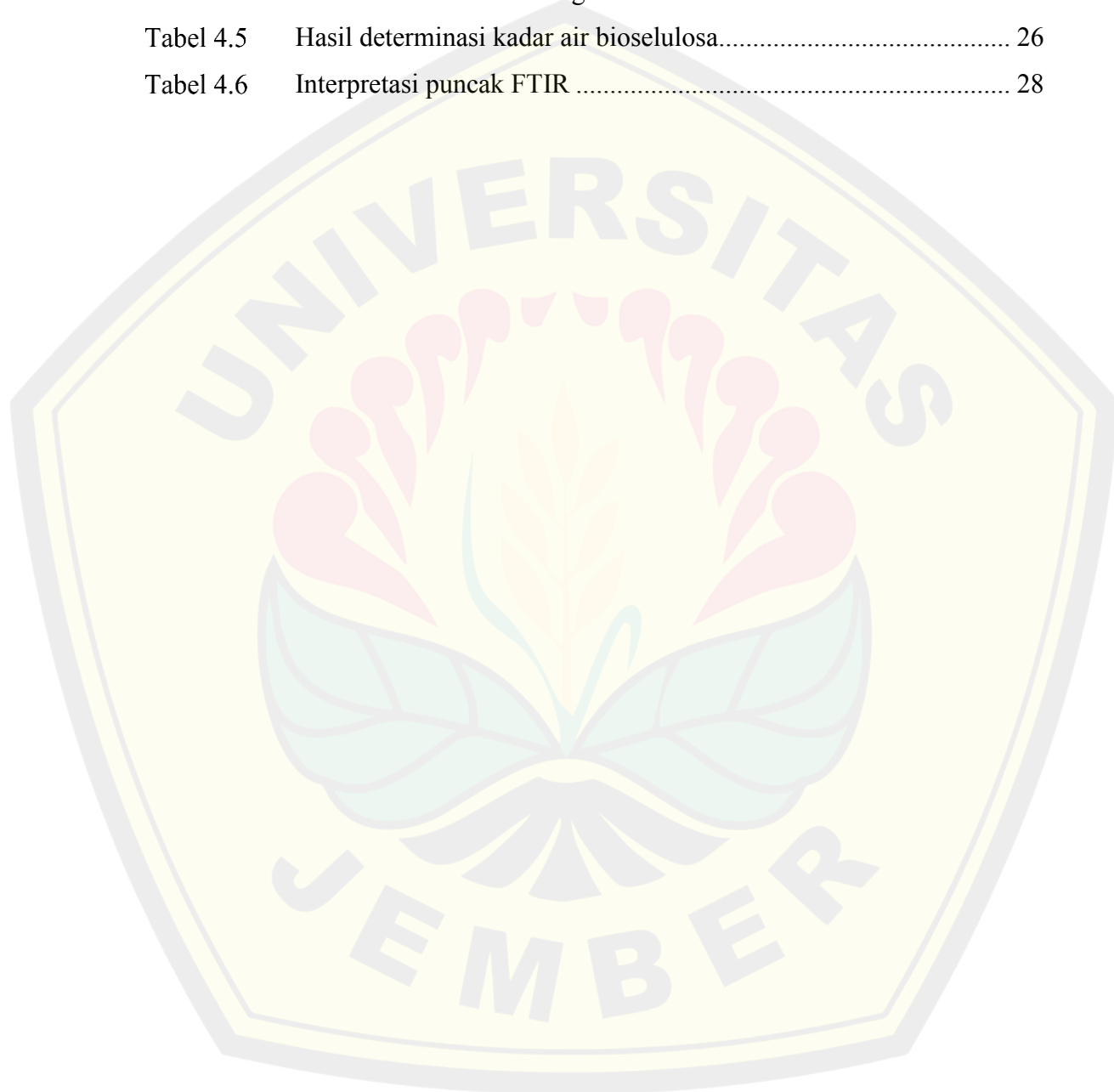
**DAFTAR ISI**

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>PERSEMBAHAN.....</b>	<b>ii</b>
<b>MOTTO.....</b>	<b>iii</b>
<b>PERNYATAAN ORISINALITAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN.....</b>	<b>v</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>vi</b>
<b>RINGKASAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>PRAKATA .....</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xv</b>
<b>BAB 1. PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Latar Belakang.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Rumusan Masalah .....</b>	<b>3</b>
<b>1.3 Tujuan Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Manfaat Penelitian.....</b>	<b>3</b>
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Selulosa dan Bioselulosa .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2 Sifat Bioselulosa .....</b>	<b>4</b>
<b>2.3 Mikroorganisme Penghasil Bioselulosa .....</b>	<b>5</b>
<b>2.4 Faktor Pengaruh Produksi Bioselulosa.....</b>	<b>5</b>
<b>2.5 Proses Pembentukan Bioselulosa.....</b>	<b>6</b>
<b>2.6 Identifikasi Isolat Bakteri.....</b>	<b>7</b>
<b>2.7 Karakterisasi Produk Bioselulosa .....</b>	<b>8</b>
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN .....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Jenis Penelitian.....</b>	<b>11</b>
<b>3.2 Variabel Penelitian.....</b>	<b>11</b>
<b>3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian.....</b>	<b>11</b>
<b>3.4 Alat dan Bahan Penelitian.....</b>	<b>11</b>

3.5	Definisi Operasional.....	11
3.6	Rancangan Penelitian .....	12
3.7	Prosedur Penelitian.....	12
3.8	Karakterisasi Bioselulosa .....	14
<b>BAB 4. HASIL PENELITIAN .....</b>		<b>15</b>
4.1	Isolasi Isolat Als1.....	15
4.2	Identifikasi Fenotipik Isolat Als1.....	15
4.3	Identifikasi Genotipik Isolat Als1 .....	17
4.4	Optimasi Produksi Bioselulosa .....	20
4.5	Karakterisasi Bioselulosa .....	22
<b>BAB 5. PENUTUP .....</b>		<b>30</b>
5.1	Kesimpulan.....	30
5.2	Saran .....	30
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>31</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>34</b>

**DAFTAR TABEL**

Tabel 4.1	Hasil pengamatan analisis morfologi isolat Als1 .....	15
Tabel 4.2	Hasil pewarnaan Gram isolat Als1 .....	16
Tabel 4.3	Hasil pengukuran optimasi bioselulosa.....	21
Tabel 4.4	Hasil determinasi swelling index bioselulosa .....	25
Tabel 4.5	Hasil determinasi kadar air bioselulosa.....	26
Tabel 4.6	Interpretasi puncak FTIR .....	28

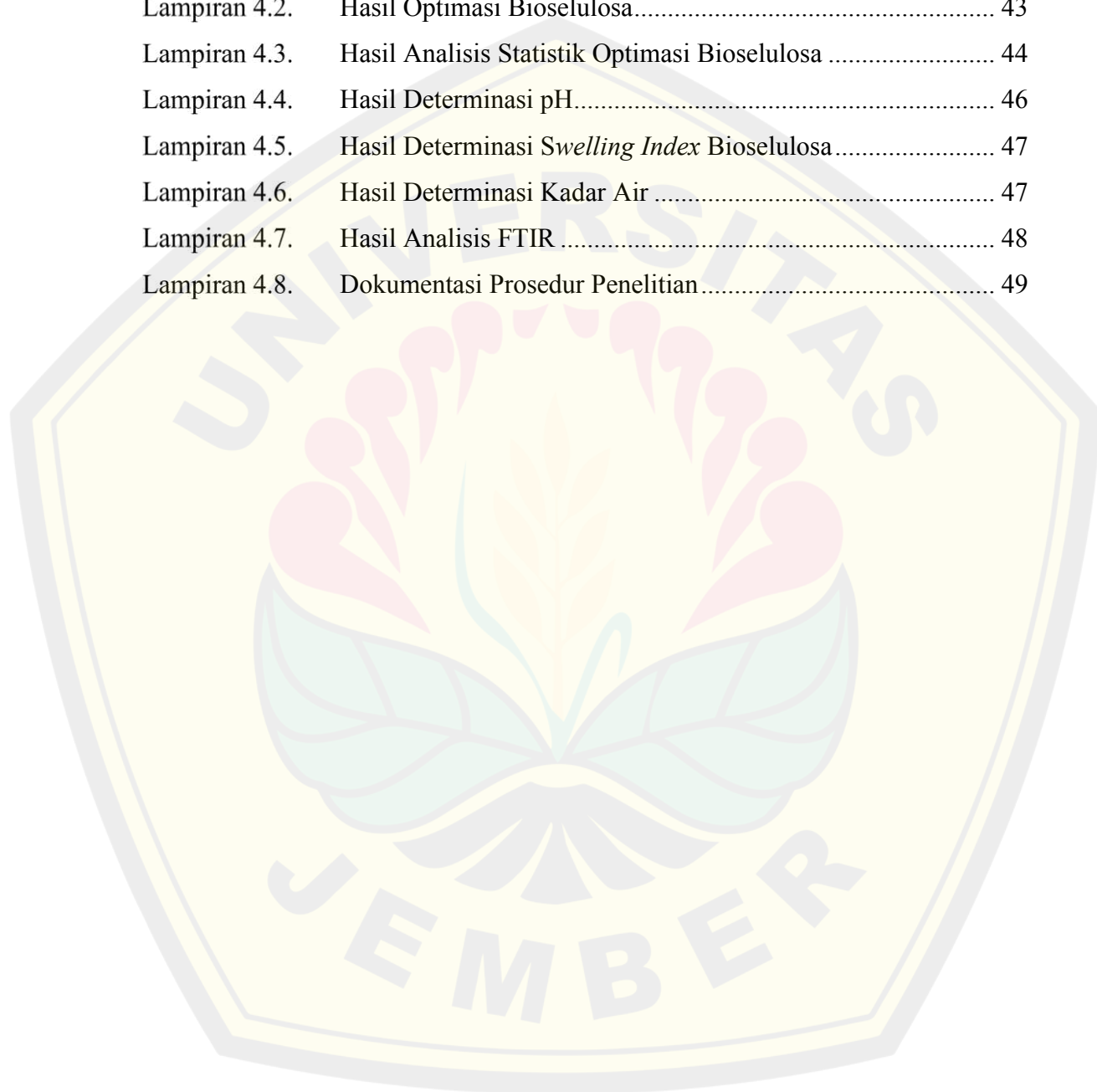


**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 2.1	Proses biosintesis bioselulosa.....	6
Gambar 2.2	Penampakan bioselulosa.....	8
Gambar 2.3	Hasil FTIR bioselulosa.....	10
Gambar 2.4	Hasil SEM bioselulosa.....	10
Gambar 3.1	Rancangan penelitian.....	12
Gambar 4.1	Isolat Als1 pada medium HS padat.....	15
Gambar 4.2	Hasil Sekuens Isolat Als1 dalam Format FASTA.....	17
Gambar 4.3	Hasil Top 10 Hit BLAST isolat Als1 di NCBI.....	18
Gambar 4.4	Hasil BLAST sampel Als1 terhadap <i>Acetobacter</i> sp. di NCBI.....	18
Gambar 4.5	Pohon filogenetik isolat Als1 di NCBI.....	19
Gambar 4.6	Visualisasi bioselulosa.....	23
Gambar 4.7	pH tahapan produksi bioselulosa.....	23
Gambar 4.8	<i>Swelling index</i> bioselulosa pada berbagai waktu perendaman.....	24
Gambar 4.9	Kadar air bioselulosa pada berbagai waktu pemanasan.....	25
Gambar 4.10	Hasil Spektrum FTIR Bioselulosa.....	27
Gambar 4.11	Hasil SEM bioselulosa.....	29

**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 3.1.	Prosedur Produksi Inokulum ( <i>nata de coco</i> ) dari Trinaco.....	34
Lampiran 3.2.	Detail Definisi Operasional .....	35
Lampiran 4.1.	Laporan Hasil Uji Identifikasi Molekuler.....	37
Lampiran 4.2.	Hasil Optimasi Bioselulosa.....	43
Lampiran 4.3.	Hasil Analisis Statistik Optimasi Bioselulosa .....	44
Lampiran 4.4.	Hasil Determinasi pH.....	46
Lampiran 4.5.	Hasil Determinasi <i>Swelling Index</i> Bioselulosa.....	47
Lampiran 4.6.	Hasil Determinasi Kadar Air .....	47
Lampiran 4.7.	Hasil Analisis FTIR .....	48
Lampiran 4.8.	Dokumentasi Prosedur Penelitian.....	49



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Selulosa adalah salah satu polimer polisakarida yang biasanya diproduksi tanaman sebagai komponen utama dinding sel. Polimer ini secara luas digunakan di beberapa industri seperti industri kertas, tekstil dan makanan. Selain tanaman, selulosa juga bisa dihasilkan dari beberapa mikroorganisme, salah satunya bakteri. Selulosa yang dihasilkan oleh bakteri, dikenal sebagai bioselulosa (*bacterial cellulose*, BC), memiliki karakteristik unik yang membedakannya dari selulosa tumbuhan (Raiszadeh-Jahromi dkk., 2020).

Komposisi bioselulosa murni hanya tersusun dari rantai  $\beta$ -1,4-glukosa, memiliki struktur nano-kristalin dengan derajat polimerisasi dan kristalinitas tinggi yang berbeda dengan selulosa tumbuhan yang mengandung lignin, hemiselulosa, dan senyawa fenolik lain (Gorgieva dan Trček, 2019). Selain itu, bioselulosa memiliki keunggulan dalam kekuatan mekanik, daya serap air tinggi, sifat biokompatibel dan biodegradabel, serta kemudahan modifikasi struktur. Bioselulosa bersifat ramah lingkungan, non toksik, non alergenik, non adesif, mampu menyerap eksudat, serta memfasilitasi autolisis jaringan nekrosis. Kemampuan bioselulosa untuk menyerap air cukup besar, 98-99%, karena struktur nano dan berporinya (Kamarudin dkk., 2013; Pacheco dkk., 2018). Berdasarkan karakteristik tersebut, bioselulosa dapat dimanfaatkan secara luas baik di bidang industri makanan, kosmetik, tekstil, hingga kesehatan dan farmasi.

Dalam bidang kesehatan, bioselulosa dapat dimanfaatkan sebagai *scaffold* jaringan, pembalut luka, dan sistem penghantaran obat. Bioselulosa dapat dimanfaatkan sebagai kulit buatan untuk pasien dengan luka bakar dan borok serta digunakan sebagai pembuluh darah buatan (Potivara dan Phisalaphong, 2019). Bioselulosa juga dapat digunakan sebagai masker anti-aging, pelembab wajah dan bahan alternatif untuk membuat cangkang kapsul (Boby dkk., 2021). Dilihat dari struktur nano dan berporinya, bioselulosa

memiliki kemungkinan menyerap bahan aktif yang dapat meningkatkan nilai fungsional sehingga bisa digunakan sebagai pembalut luka.

Beberapa genus bakteri yang mampu menghasilkan selulosa, di antaranya adalah *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Rhizobium*, dan *Acetobacter (Komagataeibacter)* (Yosboonruang dkk., 2023). Ciri khas bakteri penghasil selulosa adalah kemampuannya membentuk lapisan pelikel berwarna putih di permukaan media yang mengandung gula, nitrogen, dan mineral saat dikulturkan (Pambayun, 2002). Di antara genus-genus tersebut, *Acetobacter* dan *Gluconobacter* merupakan yang paling efektif dalam membentuk selulosa bakteri secara optimal dalam kondisi kultur (Yanti dkk., 2024).

Bakteri penghasil bioselulosa tumbuh lebih baik di daerah tropis yang hangat, lembab, dan di daerah yang kaya akan ketersediaan sumber bahan alam seperti di Indonesia. Di Indonesia khususnya Kabupaten Jember banyak produsen penghasil bioselulosa (*nata de coco*) dari isolat lokal, namun penelitian terkait identitas dan karakteristik isolat lokal masih terbatas. Hal ini yang membuat peneliti tertarik dengan topik ini. Identifikasi bakteri penghasil selulosa dari sumber lokal dilakukan melalui identifikasi fenotipik dan genotipik. Identifikasi fenotipik yang dilakukan adalah analisis morfologi dan pewarnaan gram. Metode fenotipik memiliki keterbatasan karena sering terjadi kekeliruan dalam membedakan spesies atau strain bakteri, selain itu, sifat fenotipik bakteri bersifat dinamis dan dapat berubah tergantung pada kondisi fisiologis dan lingkungan tempat tumbuhnya (Akihary dan Kolondam, 2020). Sehingga dilakukan identifikasi genotipik sebagai lanjutannya. Identifikasi yang dilakukan adalah sekuensing gen 16S rRNA. Identifikasi analisis urutan nukleotida 16S rRNA ini dilakukan untuk mengatasi keterbatasan identifikasi fenotipik (morfologi dan biokimia).

### **1.2 Rumusan Masalah**

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- a. Apa identitas bakteri penghasil selulosa yang ditemukan di lingkungan lokal?
- b. Apa saja faktor yang dapat mempengaruhi produksi bioselulosa dari bakteri isolat lokal?
- c. Bagaimana karakteristik produk bioselulosa yang dihasilkan oleh bakteri isolat lokal?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui identitas bakteri penghasil selulosa yang ditemukan di lingkungan lokal
- b. Mengetahui faktor yang dapat mempengaruhi produksi bioselulosa dari bakteri isolat lokal
- c. Mengetahui karakteristik produk bioselulosa yang dihasilkan oleh bakteri lokal

### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah:

- a. Dapat menambah pendataan mengenai bakteri penghasil bioselulosa di Indonesia
- b. Dapat menambah pengetahuan dan wawasan terkait identitas bakteri lokal penghasil selulosa dan cara bakteri menghasilkan bioselulosa

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Selulosa dan Bioselulosa

Selulosa adalah salah satu bahan polimer yang paling melimpah di alam. Selulosa diproduksi tanaman sebagai salah satu komponen utama dinding sel tumbuhan (Kasim dan Rahman, 2016; Margarety dkk., 2021). Selain dari tanaman, selulosa juga dapat diperoleh dari beberapa spesies bakteri. Selulosa yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri biasa disebut bioselulosa. Polisakarida ekstraseluler murni ini tersusun atas nanofibril yang terdiri dari ratus hingga ribuan unit rantai 1,4- $\beta$ -D-glukosa (Mohainin Mohammad dkk., 2014). Bioselulosa menjadi perhatian para peneliti karena memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan selulosa yang diproduksi dari tumbuhan. Dari penelitian Betlej dkk. (2021) dan Horue dkk. (2023), ada beberapa keuntungan bioselulosa yakni selulosa yang didapatkan lebih murni dengan tidak ada kandungan hemiselulosa dan lignin dibandingkan dengan selulosa tumbuhan yang perlu melalui banyak proses terlebih dahulu. Bioselulosa memiliki serat berukuran nano dengan diameter 10-50nm dan panjang 100-1000nm. Serat ini sekitar 100 kali lebih tipis dibandingkan selulosa tanaman (Lahiri dkk., 2021; Rohaeti dkk., 2016). Keuntungan lainnya adalah bioselulosa memiliki kinerja dan biokompatibilitas yang lebih baik dibandingkan selulosa tumbuhan. Bioselulosa sudah digunakan berbagai industri seperti di industri makanan sebagai serat makanan, industri kesehatan sebagai sebagai kulit buatan untuk pasien dengan luka bakar dan borok, industri kosmetik sebagai masker wajah, dan industri elektronik sebagai substrat untuk OLEDs (*Organic Light-Emitting Diodes*) (Marquele-Oliveira dkk., 2019; Potivara dan Phisalaphong, 2019).

### 2.2 Sifat Bioselulosa

Bioselulosa memiliki sifat struktural yang fleksibel, elastis, dan daya tarik yang tinggi. Bioselulosa memiliki ikatan hidrogen yang tinggi sehingga memungkinkan pembentukan rongga yang bisa ditanami dengan bahan lain seperti agen antimikroba. Bioselulosa bersifat permeabel terhadap cairan dan gas, nonpirogenik, non toksik, non alergenik, ramah lingkungan, hidrofilik dan

memiliki rasio *swelling* yang cukup tinggi. Hal ini membuat bioselulosa cocok untuk aplikasi biomedis seperti pembalut luka karena dapat mempertahankan suhu dan lingkungan lembab di lokasi luka. Kemampuan *swelling*-nya juga dapat dimanfaatkan untuk mengelola eksudat luka yang keluar. Bioselulosa memiliki sifat fisik yang baik karena memiliki kekuatan mekanis tinggi sehingga dapat ditarik dan dapat merenggang. Dalam hal ini, bioselulosa basah lebih baik dibandingkan bioselulosa kering (Kamarudin dkk., 2013; Swingler dkk., 2021).

### 2.3 Mikroorganisme Penghasil Bioselulosa

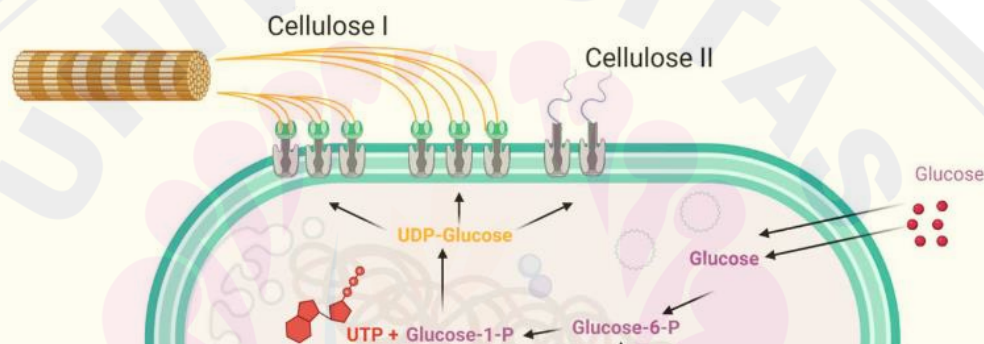
Mikroorganisme pertama yang didokumentasi dapat mensintesis selulosa adalah *Acetobacter xylinum* oleh Brown di tahun 1886. Seiring waktu, diketahui ada berbagai mikroorganisme yang dapat menghasilkan selulosa seperti bakteri, jamur, dan jamur yang menyerupai ragi. Beberapa bakteri baik gram positif dan negatif dapat menghasilkan selulosa. Bakteri tersebut meliputi *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Salmonella*, *Sarcina*, serta *Acetobacter* dan *Gluconscetobacter (Komagataeibacter)* (Suharjono dkk., 2011; Wibowo, 2015; Swingler dkk., 2021; Horue dkk., 2023; Yosboonruang dkk., 2023; Ningsih dkk., 2024).

### 2.4 Faktor Pengaruh Produksi Bioselulosa

Bioselulosa dibentuk melalui fermentasi yang dipicu oleh kondisi tertentu. Diperlukan medium tertentu agar proses fermentasi dapat berjalan. Medium harus mengandung karbon, nitrogen, dan mikronutrien. Air kelapa biasanya digunakan sebagai medium karena memiliki konsentrasi glukosa yang tinggi. Glukosa merupakan sumber karbon terbaik yang dibutuhkan bakteri (Ningsih dkk., 2024). Menurut Kasim dan Rahman (2016), sebagai medium lebih baik menggunakan air kelapa yang matang, yang tidak terlalu tua atau terlalu muda. Air kelapa yang terlalu tua mengandung minyak kelapa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri sedangkan air kelapa yang terlalu muda hampir tidak mengandung mineral yang diperlukan dalam produksi bioselulosa. Selain memperhatikan medium pertumbuhan, terdapat kondisi yang dapat

mempengaruhi pertumbuhan bakteri seperti pH, suhu, paparan oksigen dan paparan cahaya, Menurut Wibowo (2015), bakteri penghasil selulosa tumbuh di pH sekitar 3-7, di suhu sekitar 25-30, dan termasuk golongan bakteri aerobik yang membutuhkan oksigen. Bakteri tumbuh lebih baik di lingkungan yang minim paparan cahaya karena paparan dapat meningkatkan stress oksidatif pada sel bakteri fermentasi. Lingkungan yang minim paparan cahaya meminimalisir risiko pembentukan ROS. Hal ini mendukung stabilitas metabolisme dan efisiensi fermentasi, termasuk dalam produksi senyawa seperti asam organik dan eksopolisakarida seperti bioselulosa.

### 2.5 Proses Pembentukan Bioselulosa



Gambar 2.1 Proses biosintesis bioselulosa

(Swingler dkk., 2021)

Bioselulosa adalah polisakarida ekstraseluler murni yang terdiri dari nanofibril dari sumber alami. Proses biosintesis dapat dilihat pada Gambar 2.1. Biosintesis diawali dengan bakteri secara pasif menyerap glukosa sebagai sumber karbon utama dari lingkungan, lalu diubah menjadi G6P (glukosa-6-fosfat) dengan fosforilasi. G6P menjadi G1P (glukosa-1-fosfat) melalui jalur glukoneogenesis yang kemudian bereaksi dengan UTP (uridin-5-trifosfat) sehingga terkonversi menjadi UDPG (uridin difosfat glukosa). UDPG dikatalisis oleh selulosa sintase menjadi rantai polimer. Selulosa yang terdiri dari rantai-rantai fibril disekresikan melalui membran sel dan membentuk struktur agregat. Molekul struktur ini mengalami kristalisasi yang membuat struktur serat menjadi kuat dan stabil. Sumber karbon tambahan bisa didapatkan dari asam asetat.

Melalui siklus TCA (siklus asam sitrat), asam asetat dimetabolisme sehingga menghasilkan NADH dan FADH<sub>2</sub> yang menjadi ATP melalui fosforilasi oksidatif yang mendorong konversi glukosa menjadi G6P. Selain sumber karbon, sumber nitrogen juga sangat penting dalam mendukung sintesis protein dan enzim di jalur metabolisme glukosa sehingga dapat terjadi sekresi dan agregasi bioselulosa (Swingler dkk., 2021; Jiang dkk., 2023).

## 2.6 Identifikasi Isolat Bakteri

Identifikasi bakteri adalah proses penentuan nama atau spesies dari isolat bakteri berdasarkan karakteristiknya. Identifikasi isolat bakteri dapat dilakukan secara fenotipik dan genotipik. Identifikasi fenotipik dapat dilakukan melalui analisis morfologi, uji biokimia, dan karakteristik fisiologis. Informasi mengenai morfologi koloni ini sangat membantu dalam proses klasifikasi dan penentuan jenis bakteri. Secara umum, bentuk dasar bakteri terdiri dari beberapa tipe, antara lain berbentuk bulat (*coccus* untuk tunggal dan *cocci* untuk jamak), batang atau silindris (*bacillus/bacilli*), serta spiral yang memiliki bentuk melengkung atau berpilin. Sebagian besar bakteri bersifat monomorfik, artinya hanya memiliki satu bentuk, namun ada juga jenis bakteri yang bersifat polimorfik dengan bentuk yang bervariasi. Umumnya, bakteri memiliki ukuran diameter sekitar 0,2–2,0 mikrometer dan panjang antara 2–8 mikrometer. Sel bakteri yang masih muda biasanya berukuran lebih besar dibandingkan dengan sel yang lebih tua. Bentuk dan ukuran bakteri ini dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, seperti suhu inkubasi, umur kultur, serta kandungan nutrisi dalam media pertumbuhan (Berlanga, 2014; Pratiwi, 2008).

Identifikasi genotipik merupakan pendekatan yang mengandalkan analisis materi genetik, khususnya DNA, untuk mengenali suatu organisme. Dalam beberapa dekade terakhir, metode ini menjadi populer karena kemampuannya memberikan hasil yang cepat dan akurat. Berbeda dengan metode fenotipik yang bergantung pada karakter pertumbuhan atau aktivitas biokimia bakteri, identifikasi genetik memungkinkan analisis langsung pada

tingkat gen, sehingga hasil dapat diperoleh hanya dalam 1–2 hari (Cook dkk., 2003).

Salah satu metode genotipik yang banyak digunakan untuk identifikasi bakteri adalah sekuensing gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA ini memiliki panjang sekitar 1500 pasangan basa dan terdiri dari daerah konservatif serta daerah variabel yang memungkinkan identifikasi spesifik. Terdapat sembilan daerah hipervariabel yang umum digunakan untuk membedakan antar spesies. Primer untuk amplifikasi biasanya didesain berdasarkan urutan konservatif, sehingga dapat menargetkan berbagai bakteri (Baker dkk., 2003). Keunggulan lain dari metode ini adalah tersedianya lebih dari 90.000 urutan 16S rRNA di GenBank, menjadikannya sebagai sumber pembandingan yang sangat lengkap (Clarridge, 2004). Oleh karena itu, teknik ini semakin banyak digunakan sebagai alat identifikasi genetik yang andal dalam penelitian mikrobiologi modern.

## **2.7 Karakterisasi Produk Bioselulosa**

Karakterisasi dilakukan pada kondisi bioselulosa pada kondisi yang paling optimal.

### **2.7.1 Pengujian organoleptis**

Uji organoleptik adalah metode evaluasi sensorik dengan visualisasi manusia untuk menilai karakteristik sensorik produk, seperti tekstur, kenampakan, dan bau. Penelitian Kasim dan Rahman (2016) memperlihatkan penampakan visual bioselulosa yang putih, permukaan yang halus, basah berlendir dan padat, lihat Gambar 2. 2.



Gambar 2.2 Penampakan bioselulosa

(Kasim dan Rahman, 2016)

### 2.7.2 Determinasi pH

Determinasi pH adalah metode analisis kimia untuk mengukur keasaman atau kebasaan produk yang dapat mempengaruhi stabilitas produk, umur simpan, dan potensi aplikasi. Tingkat pH diukur menggunakan pH meter atau pH universal lalu dibandingkan dengan standar yang disyaratkan. Bioselulosa cepat diproduksi di pH 3,5-7,0 dengan laju produksi tertinggi di pH 4,5-6,0 (Zahan dkk., 2015).

### 2.7.3 Determinasi *swelling index* bioselulosa

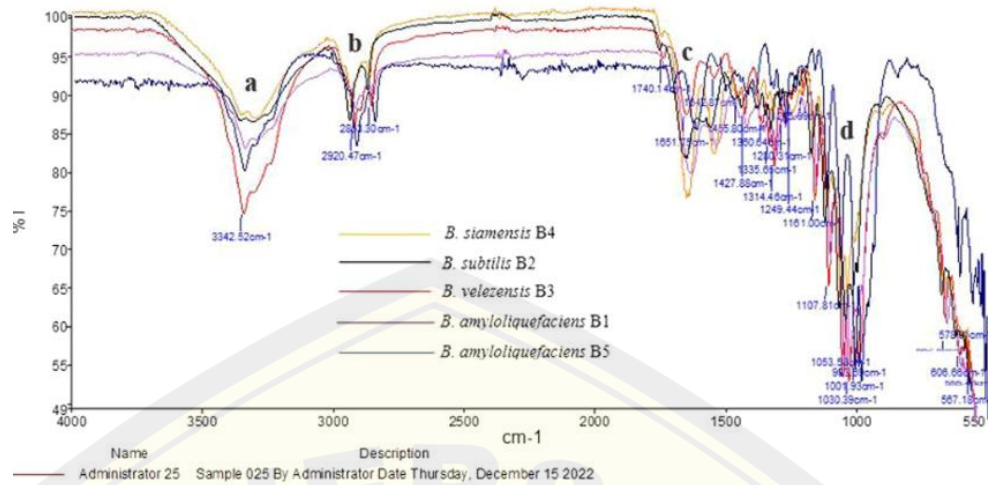
Determinasi *swelling index* adalah metode analisis fisik yang digunakan untuk mengevaluasi kapasitas penyerapan air produk bioselulosa. Tes ini melibatkan perendaman produk dalam air dan mengukur peningkatan volume. Hasilnya digunakan untuk menentukan kemampuan produk dalam menyerap air dan potensi penerapannya

### 2.7.4 Determinasi kadar air bioselulosa

Determinasi kadar air (*moisture content test*) adalah metode analisis fisik untuk menentukan persentase kandungan air. Kandungan air mempengaruhi tekstur produk, umur simpan, dan potensi kandungan bahan yang dapat diserap. Kadar air dapat diukur menggunakan berbagai metode, salah satunya gravimetri.

### 2.7.5 Analisis FTIR dan SEM

Analisis FTIR (*Fourier Transform Inframerah*) adalah metode spektroskopi untuk mengidentifikasi komposisi kimia produk dengan melewatkan radiasi *infrared* dan mengukur penyerapan panjang gelombang tertentu. Analisis ini juga dapat menentukan kualitas dan keaslian produk. Hasil analisis FTIR berupa puncak-puncak gelombang seperti pada hasil penelitian Bektas dan Yildirim (2025) terhadap sampel bioselulosa (BC), lihat Gambar 2.2.

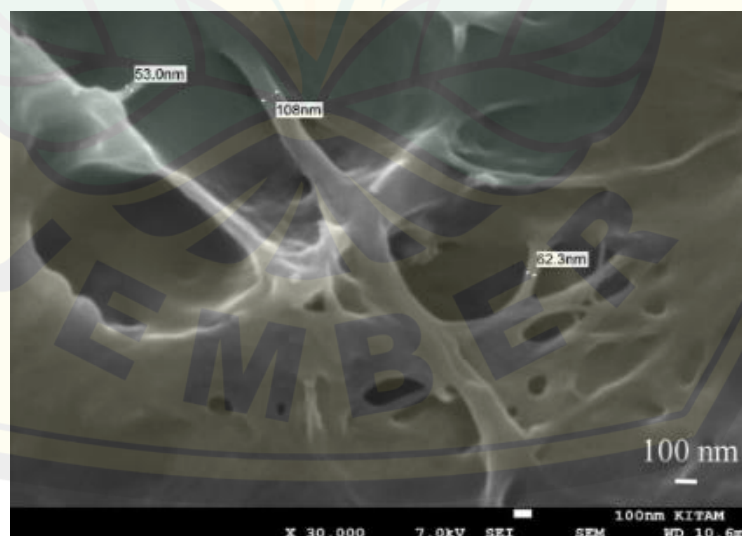


\*a: gugus hidroksil (-OH), b: vibrasi ulur C-H; c: vibrasi tekuk molekul air yang diserap; d: vibrasi ulur C-O

Gambar 2.3 Hasil FTIR bioselulosa

(Bektas dan Yildirim, 2025)

Analisis SEM (*Scanning Electron Microscopy*) adalah metode mikroskopis untuk memvisualisasikan morfologi permukaan produk dengan memindai permukaan produk menggunakan berkas elektron terfokus. Hasil berupa gambar resolusi tinggi digunakan untuk evaluasi tekstur, struktur, dan cacat atau kontaminan produk seperti pada hasil penelitian Bektas dan Yildirim (2025) terhadap sampel bioselulosa (BC), lihat Gambar 2.3.



Gambar 2.4 Hasil SEM bioselulosa

(Bektas dan Yildirim, 2025)

### BAB 3. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk *true experimental laboratories* karena perlu eksperimen untuk mengetahui jika ada pengaruh setelah perlakuan tertentu.

#### 3.2 Variabel Penelitian

Variabel bebas penelitian ini yaitu konsentrasi isolat dan lama produksi bioselulosa. Variabel terikat berupa tebal, berat, dan massa bioselulosa. Variabel terkendali yaitu kondisi penyimpanan seperti pH, suhu, dan cahaya.

#### 3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Farmasi Universitas Jember pada bulan April 2024 hingga Juli 2025.

#### 3.4 Alat dan Bahan Penelitian

##### 3.4.1 Alat

Penelitian ini menggunakan alat-alat gelas, jarum ose, lampu spiritus, *shaker incubator*, mikroskop, saringan, corong plastik, neraca analitik, *hot plate*, autoklaf, jangka sorong, oven (Memmert), mikropipet, *LAF*, kulkas, beban, pH meter, botol timbang, desikator, FTIR, dan SEM.

##### 3.4.2 Bahan

Penelitian ini menggunakan inokulum lokal, *complex medium* HS, parafilm petri, etanol, air kelapa, gula pasir, ammonium sulfat, asam asetat glasial, akuades, pewarna primer kristal ungu, iodium, eranol, dan safranin.

#### 3.5 Definisi Operasional

Definisi operasional menjelaskan lebih spesifik mengenai variabel yang digunakan. Penelitian ini menggunakan:

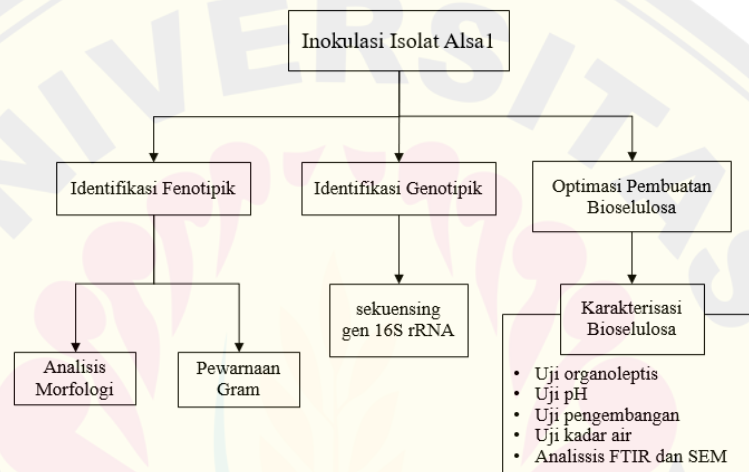
- a. Inokulum lokal diperoleh dari produsen lokal, yakni Industri Nata De Coco “UD. S. Wijai Wira Mandiri (SWM)” di Nogosari, Rambipuji, Jember. Produsen menduga bahwa inokulum termasuk *Acetobacter sp.* Inokulum lokal ini diberi nama isolat Als1.

- b. Air kelapa segar diperoleh dari penjual kelapa yakni di “Slep Kelapa & Nyiur + Singkong” Pasar Tanjung, Jember.
- c. Dua medium pertumbuhan, yakni: *complex medium* HS (Hestrin & Schramm) untuk identifikasi lebih akurat dan medium campuran air kelapa untuk optimasi yang mudah dan terjangkau.

Detail definisi operasional dapat dilihat di Lampiran 3.2.

### 3.6 Rancangan Penelitian

Skema rancangan penelitian dapat dilihat di Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Rancangan penelitian

### 3.7 Prosedur Penelitian

#### 3.7.1 Isolasi Isolat ALSa1

Isolasi bakteri membutuhkan medium. Medium dibuat menurut Sperotto dkk. (2021). Penelitian ini menggunakan *complex medium* HS. Komposisi medium dapat dilihat di Lampiran 3.2. Setelah medium memadat, dapat dilakukan inokulasi bakteri dengan metode cawan gores. Isolat dapat digunakan untuk menentukan identitas dari mikroorganisme seperti bakteri.

#### 3.7.2 Identifikasi Fenotipik Isolat ALSa1

Identifikasi fenotipik yang dilakukan adalah analisis morfologi dan pewarnaan Gram. Analisis morfologi dilakukan melalui pengamatan secara fisik seperti bentuk, ukuran, warna, tekstur koloni dari isolat di media kultur.

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui bentuk sel dan ukuran sel secara mikroskopik serta jenis bakteri, yakni gram negatif atau bakteri gram positif. Sebelum dilakukan pewarnaan, dilakukan fiksasi karena proses ini mempengaruhi kualitas hasil pewarnaan. Setelah difiksasi, pewarnaan gram dapat dilakukan berdasarkan penelitian Mahestri dkk. (2021).

### 3.7.3 Identifikasi Genotipik Isolat Als1

Identifikasi genotipik yang dilakukan ialah sekuensing gen 16S rRNA. Identifikasi ini mengikuti protokol standar dari Vu dkk. (2019). Proses dimulai dengan ekstraksi DNA dari sampel isolat menggunakan Quick-DNA Magbead Plus Kit (Zymo Research) sesuai petunjuk pabrikan untuk memperoleh DNA yang murni. Tahap selanjutnya adalah amplifikasi DNA melalui PCR menggunakan MyTaq HS Red Mix (Bioline) dengan volume reaksi total 25  $\mu$ l. PCR dilakukan dengan kondisi: denaturasi awal 95°C selama 1 menit, diikuti 35 siklus denaturasi (95°C, 10 detik), annealing (52°C, 15 detik), dan elongasi (72°C, 15 detik), diakhiri dengan penahanan suhu 4°C. Produk PCR disekuensing secara dua arah (bi-direksional sequencing) menggunakan metode *Sanger DNA Sequencing* dengan elektroforesis kapiler. Visualisasi dilakukan melalui elektroforesis gel agarose, dan data sekuens dianalisis menggunakan metode BLAST dan *Neighbor-Joining Tree* di NCBI untuk menentukan spesies bakteri secara akurat.

### 3.7.4 Optimasi produksi bioselulosa

Produksi bioselulosa dilakukan berdasarkan tahapan dari PT. Trinaco Nata Abadi dan produsen lokal UD. swm., lihat Lampiran 3.1 dan Lampiran 3.2. Optimasi menggunakan 50 mL medium campuran air kelapa terhadap konsentrasi isolat Als1 (5% (2,5mL), 10% (5mL), dan 15% (7,5mL)) dan lama produksi bioselulosa (5 hari, 10 hari, dan 15 hari). Hasil optimasi berupa data tebal, diameter, dan massa. Optimasi direplikasi dua kali sebagai pembandingan. Kemudian dianalisis secara statistik menggunakan *software* SPSS dengan pendekatan *two way ANOVA (Analysis of Variance)* untuk menguji perbedaan rata-rata antar kedua kelompok optimasi. Jika hasil

signifikan, dilakukan uji *post hoc* Turkey HSD untuk mengetahui perbedaan paling signifikan diantara kelompok perlakuan. Jika hasilnya  $p > 0,05$ , maka ada perbedaan nyata diantara kelompok optimasi.

### 3.8 Karakterisasi Bioselulosa

Dilakukan karakterisasi pada bioselulosa yang paling optimal, yakni:

#### a. Pengujian organoleptis

Hasil dari pengujian ini adalah visualisasi bioselulosa di suhu ruang yang meliputi warna, bau, dan kondisi fisik bioselulosa.

#### b. Determinasi pH

Determinasi pH dilakukan dengan memasukkan elektroda ke dalam larutan hingga menunjukkan nilai spesifik pH sampel di suhu ruang. pH tumbuh bakteri penghasil selulosa adalah 3-7 (Wibowo, 2015).

#### c. Determinasi *swelling index* bioselulosa

Determinasi *swelling index* menggunakan 4cm<sup>2</sup> bioselulosa yang dikeringkan hingga berat konstan (dilapisi tisu). Lalu direndam dalam 1 mL akuades di suhu ruang. Berat bioselulosa didata setiap jam dan dihitung sesuai dengan formula berikut, (Dobre dkk., 2010):

$$\text{Swelling index} = \frac{\text{bobot kembang bioselulosa} - \text{bobot awal bioselulosa}}{\text{bobot awal bioselulosa}} \times 100\%$$

#### d. Determinasi kadar air bioselulosa

Determinasi kadar air menggunakan 4cm<sup>2</sup> bioselulosa yang dimasukkan ke dalam botol timbang dan diukur bobotnya. Bioselulosa dipanaskan dalam oven (105°C, 15 menit) dan dimasukkan dalam desikator (5 menit). Lalu bobotnya diukur. Pemanasan dan pengeringan dilakukan kembali hingga bobot bioselulosa konstan. Data bobot dihitung sesuai formula berikut, (Ningsih dkk., 2024):

$$\text{Moisture content} = \frac{\text{bobot awal bioselulosa} - \text{bobot akhir bioselulosa}}{\text{bobot akhir bioselulosa}} \times 100\%$$

#### e. Analisis FTIR dan SEM

Analisis FTIR menggunakan bioselulosa kering, sedangkan analisis SEM menggunakan bioselulosa basah dan *dicoating* (Dobre dkk., 2010; Ningsih dkk., 2024).

## BAB 4. HASIL PENELITIAN

### 4.1 Isolasi Isolat Als1

Isolasi bakteri menggunakan *complex medium* Hestrin dan Schramm. Isolasi ini digunakan karena bakteri membutuhkan sumber karbon dan energi yang berasal dari glukosa dan asam sitrat; sumber nitrogen dan vitamin yang berasal dari ekstrak ragi dan pepton; dan juga terdapat buffer yakni disodium fosfat. Diakhir pembuatan medium padat, ditambahkan *bacto agar* sehingga medium cair menjadi padat. Setelah itu, bakteri dapat di isolasi dan diberi label Als1. Berikut merupakan hasil isolasi pada medium padat usia 3 hari, lihat Gambar 4.1. Setelah itu, Isolat diidentifikasi secara fenotipik dan genotipik.



Gambar 4.1 Isolat Als1 pada medium HS padat

### 4.2 Identifikasi Fenotipik Isolat Als1


Identifikasi fenotipik yang dilakukan pada penelitian ini adalah analisis morfologi dan pewarnaan Gram, Analisis morfologi dilakukan dengan mengamati secara fisik koloni pada medium. Digunakan mikroskop stereo perbesaran 30x untuk mengamati permukaan secara tiga dimensi, lihat Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil pengamatan analisis morfologi isolat Als1

Pengenalan Morfologi	Hasil	Gambar
Bentuk koloni	Bulat, berdekatan	
Tepian koloni	Halus dan rata	
Elevasi koloni	Sedikit cembung	
Ukuran koloni	diameter 1-3mm	
Warna koloni	putih krem kekuningan	
Tekstur koloni	halus, tidak tembus cahaya	

Pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri dengan zat warna serta bentuk sel dan ukuran sel secara mikroskopis. Pengamatan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 1000x. Hasil dari pewarnaan Gram penelitian ini dapat dilihat di Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil pewarnaan Gram isolat Als1

<b>Pengenalan Pewarnaan Gram</b>	<b>Hasil</b>
Bentuk sel	batang atau silinder
Ukuran sel	panjang sekitar 2-4 $\mu\text{m}$ , lebar sekitar 0,5-1 $\mu\text{m}$ .
Jenis bakteri	Bakteri gram negatif (hasil pengamatan berwarna merah)
Dokumentasi hasil pewarnaan Gram (usia 4 hari)	

Pewarnaan diawali dengan menggunakan kristal ungu sebagai pewarna primer. Lalu ditambahkan larutan iodium sebagai pembantu mengikat kristal violet pada dinding sel bakteri yakni peptidoglikan. Larutan etanol ditambahkan sebagai penghilang kompleks kristal violet iodium dari dinding sel sehingga warna menghilang. Bakteri gram positif dapat mempertahankan warna ungu karena tidak memiliki membran luar dan memiliki peptidoglikan yang lebih tebal. Safranin ditambahkan sebagai pewarna sekunder agar memberikan kontras pada bakteri gram negatif yang kehilangan warna ungu. Pewarna ini memberi warna merah muda atau merah yang mempermudah dalam pengamatan (Irawati dkk., 2022). Jika hasil pewarnaan berwarna ungu maka termasuk bakteri Gram positif, sedangkan jika berwarna merah maka termasuk bakteri Gram negatif berwarna merah.

Hasil pewarnaan yang didapatkan ialah bakteri berwarna merah, artinya isolat Als1 termasuk bakteri Gram negatif. Menurut penelitian Li dkk. (2022), bakteri Gram positif seperti *Leifsonia* sp. dan bakteri Gram negatif seperti *Acetobacter* sp. dapat membentuk bioselulosa. Sehingga secara teoritis, bioselulosa dapat diproduksi oleh bakteri Gram negatif seperti isolat Als1.

### 4.3 Identifikasi Genotipik Isolasi Als1

Identifikasi genotipik dilakukan untuk menganalisis materi genetik pada isolat. Analisis yang dilakukan ialah dengan sekuensing gen 16S rRNA, lihat Lampiran 4.1. Hasil Analisa PCR isolat yang diperoleh terhadap gen 16S rRNA berupa format FASTA kode G-34438-1 dengan panjang 1424bp, lihat Gambar 4.2.

```

1      TGCAGTCGAA  CGCGTCTTGG  TTAATGATGT  TAGGTGCTTG  CATTAACTG
51     ATTTAACATT  GAGACGAGTG  GCGAACTGGT  GAGTAACACG  TGGGTAACCT
101    GCCCTGAAGT  GGGGGATAAC  ACTTGAAAC   AGGTGCTAAT  ACCGCATAAC
151    AACGAAAACC  ACATGGTTTT  CGTTTGAAAG  ATGGCTTCGG  CTGTCACTTT
201    TGGATGGACC  CGCGGCGTAT  TAGCTTGTTG  GTGAGGTAAC  GGCTCACCAA
251    GGCCATGATA  CGTAGCCGAC  CTGAGAGGGT  AATCGGCCAC  ATGGGACTG
301    AGACACGGCC  CAAATCCCTA  CGGGAGGCAG  CAGTAGGGAA  TCTTCCACAA
351    TGGACGAAAG  TCTGATGGAG  CAACGCCGCG  TGAGTGATGA  AGGGTTTCGG
401    CTCGTAAAAC  TCTGTTGTTG  GAGAAGAACA  GGTGATAGAG  TAACTGTTAT
451    CATCTTGACG  GTATCCAACC  AGAAAGCCAC  GGCTAACTAC  GTGCCAGCAG
501    CCGCGGTAAT  ACGTAGGTGG  CAAGCGTTGT  CCGGATTTAT  TGGGCGTAAA
551    GCGAGCGCAG  GCGGTTTTTT  AGGTCTGATG  TGAAAGCCTT  CGGCTTAACC
601    GGAGAAGGGC  ATCGGAAACC  GGGAGACTTG  AGTGCAGAAG  AGGACAGTGG
651    AACTCCATGT  GTAGCGGTGA  AATGCGTAGA  TATATGGAAG  AACACCAGTG
701    GCGAAGGCGG  CTGTCTGGTC  TGTAACTGAC  GCTGAGGCTC  GAAAGCATGG
751    GTAGCGAACA  GGATTAGATA  CCTGGTAGT   CCATGCCGTA  AACGATGAGT
801    GCTAAGTGTT  GGAGGGTTTC  CGCCCTTCAG  TGCTGCAGCT  AACGCATTAA
851    GCACTCCGCC  TGGGGAGTAC  GACCGCAAGG  TTGAAACTCA  AAGGAATTGA
901    CGGGGGCCCG  CACAAGCGGT  GGAGCATGTG  GTTTAATTCG  ATGCTACGCG
951    AAGAACCTTA  CCAGGTCTTG  ACATCTTCTG  CTAACCTAAG  AGATTAGGCG
1001   TTCCCTTCGG  GGACGGAATG  ACAGGTGGTG  CATGGTTGTC  GTCAGCTCGT
1051   GTCGTGAGAT  GTTGGGTTAA  GTCCCACAAC  GAGCGCAACC  CTTATTGTCA
1101   GTTGCCAGCA  TTTAGTTGGG  CACTCTGGCG  AGACTGCCGG  TGACAAACCG
1151   GAGGAAGGTG  GGGATGACGT  CAAATCATCA  TGCCCCTTAT  GACCTGGGCT
1201   ACACACGTGC  TACAATGGAC  GGTACAACGA  GTCGCGAAAC  CGCGAGGTCA
1251   AGCTAATCTC  TTAAAGCCGT  TCTCAGTTCG  GATTGCAGGC  TGCAACTCGC
1301   CTGCATGAAG  TTGGAATCGC  TAGTAATCGT  GGATCAGCAT  GCCACGGTGA
1351   ATACGTCCC   GGGCCTTGTA  CACACGCCCC  GTCACACCAT  GAGAGTTTGT
1401   AACACCCAAA  GCCGGTGAGG  TAAC

```

Gambar 4.2 Hasil Sekuens Isolasi Als1 dalam Format FASTA

Format FASTA tersebut digunakan sebagai *query* dalam BLAST pada GenBank NCBI untuk mengetahui informasi jenis mikroba yang memiliki tingkat keasaman tertinggi sehingga sampel dapat diidentifikasi. Hasil Top 10 *Hit BLAST* terhadap NCBI dapat dilihat di Gambar 4.3. Selain hasil ini, dilakukan perbandingan FASTA sampel terhadap *Acetobacter* sp. Yang dapat dilihat di Gambar 4.4. Dari hasil *BLAST* ini, dapat dibuat pohon filogenetik di NCBI dengan metode *neighbor-joining*. Metode ini menggunakan basis jarak dengan kelebihan cepat dan efektif untuk dataset yang besar. Hasil pohon filogenetik yang dapat dilihat di Gambar 4.5.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain FQ066 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2630	2630	100%	0.0	100.00%	<a href="#">KF418824.1</a>
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain OCLP1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2630	2630	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MK605951.1</a>
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain SDMCC050300 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2630	2630	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MF159080.1</a>
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain CQ117-1-2 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2630	2630	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MG646896.1</a>
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain 1502 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2630	2630	100%	0.0	100.00%	<a href="#">MN784681.1</a>
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain NWAFU1267 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2628	2628	99%	0.0	100.00%	<a href="#">MG462171.1</a>
<a href="#">Lentilactobacillus parafarraginis strain HBUAS58317 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2625	2625	100%	0.0	99.93%	<a href="#">ON204570.1</a>
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain TCP024 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2625	2625	100%	0.0	99.93%	<a href="#">KF312685.1</a>
<a href="#">Lactobacillus parafarraginis strain ZH1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	2625	2625	99%	0.0	100.00%	<a href="#">JN987663.1</a>
<a href="#">Lentilactobacillus parafarraginis strain NRIC_0677 16S ribosomal RNA, partial sequence</a>	2625	2625	100%	0.0	99.93%	<a href="#">NR_041468.1</a>

Gambar 4.3 Hasil Top 10 Hit BLAST isolat Als1 di NCBI

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<a href="#">Acetobacter pasteurianus 16S rRNA gene, strain AUC25</a>	1772	1772	95%	0.0	90.23%	<a href="#">FM179768.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus 16S rRNA gene, strain AUC13</a>	1751	1751	95%	0.0	89.96%	<a href="#">FM179766.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus 16S rRNA gene, strain AUC17</a>	1749	1749	95%	0.0	89.99%	<a href="#">FM179767.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus strain APBSMLB7 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1746	1746	95%	0.0	89.88%	<a href="#">MG705786.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus 16S rRNA gene, strain AUC29</a>	1735	1735	95%	0.0	89.72%	<a href="#">FM179769.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus 16S rRNA gene, strain BAC24</a>	1733	1733	95%	0.0	89.73%	<a href="#">FM179770.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus 16S rRNA gene, strain CCM_3614</a>	1733	1733	95%	0.0	89.69%	<a href="#">FM178868.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus strain YVB24 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1646	1646	95%	0.0	88.48%	<a href="#">KX831391.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus 16S rRNA gene, strain CCM_3612</a>	1618	1618	95%	0.0	88.21%	<a href="#">FM178866.1</a>
<a href="#">Acetobacter pasteurianus strain W6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</a>	1618	1618	95%	0.0	88.21%	<a href="#">KC662507.1</a>

Gambar 4.4 Hasil BLAST sampel Als1 terhadap *Acetobacter* sp. di NCBI



Gambar 4.5 Pohon filogenetik isolat Alsa1 di NCBI

Menurut Stackebrandt dan Goebel (1994), identifikasi berdasarkan gen 16S rRNA dinyatakan identik di level spesies jika nilai presentase identitas diatas 97,5% dan pada level genus jika nilai presentase identitas diatas 95%. Dari hasil BLAST, diketahui bahwa nilai presentase identitas bakteri *Lactobacillus parafarraginis* lebih dari 97,5% yang artinya bahwa sampel Alsa1 identik pada level spesies. Hal ini berbeda dengan dugaan penjual lokal yang menduga bahwa sampel berasal dari *Acetobacter* sp. (nilai presentase identitas < 97,5%). Sehingga sampel Alsa1 tidak identik di level spesies dan genus dengan *Acetobacter* sp. Hasil TOP 10 Hit BLAST digunakan untuk membuat pohon filogenetik. Dari pohon ini diketahui bahwa terdapat strain yang berada dalam satu *clade* dengan Alsa1. Strain dalam satu *clade* menandakan bahwa perbedaan genetik diantaranya sangat kecil. Sehingga dapat dikatakan bahwa Alsa1 kemungkinan besar adalah *Lactobacillus parafarraginis* strain FQ066. Klasifikasi bakteri *Lactobacillus parafarraginis* yakni: Kingdom Bakteria, Divisi Firmicutes, Kelas Bacilli, Ordo Lactobacillales, Famili Lactobacillaceae, Genus *Lactobacillus*, Spesies *Lactobacillus parafarraginis* (Endo dan Okada, 2007; Liu dkk., 2014).

#### 4.4 Optimasi Produksi Bioselulosa

Pada produksi bioselulosa digunakan medium campuran air kelapa, lihat Lampiran 3.2. Air kelapa difermentasi 2-3 hari untuk membuat suasana menjadi asam. Air kelapa digunakan sebagai sumber nutrisi dan medium pertumbuhan. Penyaringan dilakukan untuk menyaring pengotor. Pemanasan dengan *hot plate* dilakukan untuk membunuh beberapa bakteri dan mengurangi kadar alkohol. Digunakan beberapa bahan dengan berbagai tujuan. Glukosa digunakan sebagai sumber karbon utama yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Ammonium sulfat ditambahkan untuk sumber karbon dan sumber nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri. Asam asetat glasial (pH sekitar 2,5) bertujuan untuk mengatur pH sehingga tercipta kondisi yang mendukung pembentukan bioselulosa dan juga sebagai sumber karbon tambahan.

Inokulum lokal adalah mikroorganisme penghasil selulosa. Selain itu, perlu dilakukan penyesuaian kondisi yang mendukung pembentukan bioselulosa seperti pH, suhu tumbuh, paparan oksigen, dan paparan cahaya. Pertumbuhan bakteri *Lactobacillus parafaraginis* di pH 3,5-6,5 dengan pH optimum 4,5 dan di suhu 5°C-50°C dengan suhu optimum 20°C dan 30°C (Liu dkk., 2014). Bakteri ini masih harus mendapat paparan oksigen karena tergolong bakteri aerobik dan lebih baik tumbuh di lingkungan yang minim cahaya.

Optimasi bioselulosa dilakukan secara kuantitatif dengan metode gravimetri berdasarkan konsentrasi isolat Als1 dan lama produksi bioselulosa. Menurut penelitian Rackov dkk. (2025), semakin tebal dan berat *massa* pelikel bioselulosa maka kapasitas penahan airnya lebih tinggi dan kekuatan mekaniknya meningkat. Hal ini menandakan kualitas bioselulosa lebih optimal saat pelikel lebih tebal dan lebih berat. Sehingga dalam penelitian ini, semakin besar atau tinggi hasil optimasinya, maka dapat dikaltakan bioselulosa semakin optimal. Hasil optimasi pada penelitian ini berupa massa bioselulosa. Hasil optimasi dapat dilihat di Tabel 4.3 dan di Lampiran 4.2.

Tabel 4.3 Hasil pengukuran optimasi bioselulosa

Lama Produksi	Konsentrasi Isolat Als1	massa (g)
5 hari	5%	5,195 ± 0,006 <sup>a</sup>
	10%	7,966 ± 0,049 <sup>b</sup>
	15%	8,226 ± 0,150 <sup>b</sup>
10 hari	5%	6,498 ± 0,103 <sup>c</sup>
	10%	9,188 ± 0,158 <sup>d</sup>
	15%	11,414 ± 0,080 <sup>e</sup>
15 hari	5%	8,166 ± 0,047 <sup>f</sup>
	10%	9,101 ± 0,126 <sup>g</sup>
	15%	9,530 ± 0,003 <sup>h</sup>

\*nilai (rata-rata ± SD) merupakan rata-rata dari setiap sampel, yang ditentukan dalam 2 ulangan ( $n=2$ ). Huruf superskrip menunjukkan perbedaan yang signifikan antara rata-rata menggunakan uji *post hoc* Turkey HSD ( $P<0,05$ )

Dari data optimasi, dapat dibuat grafik hubungan massa bioselulosa berdasarkan lama produksi dan konsentrasi inokulum (isolat Als1), lihat Gambar 4.6. Lalu dilakukan analisis statistik berupa uji *Two-Way* ANOVA dan uji Turkey HSD. Dilakukan uji *Two-Way* ANOVA untuk mengetahui pengaruh masing-masing faktor secara individual ataupun interaksi antara keduanya terhadap hasil produksi yang berupa *massa*. Uji Turkey HSD dilakukan untuk mengetahui kelompok yang berbeda secara nyata. Hasil analisis statistik optimasi bioselulosa dapat dilihat pada Lampiran 4.3.

Dari hasil pengukuran optimasi bioselulosa, diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi isolat Als1, maka semakin berat massa bioselulosa yang dihasilkan. Kemudian, data ini digunakan untuk mendapatkan hasil statistik uji *Two-Way* ANOVA karena diketahui bahwa lama produksi dan konsentrasi isolat berpengaruh signifikan terhadap *massa* bioselulosa dengan  $p<0,001$ . Sehingga dapat dikatakan bahwa variasi faktor memberikan perbedaan signifikan terhadap hasil bioselulosa yang dihasilkan. Dilakukan juga analisis *split file*, ditandai dengan nilai interaksi lama produksi\*konsentrasi ( $df=0$ ). Pengaruh interaksi diuji secara terpisah berdasarkan waktu produksi. Lalu dilakukan uji Turkey HSD untuk mengetahui perbedaan signifikan antar konsentrasi pada setiap waktu dengan hasil berikut:

- a. Pada produksi bioselulosa hari kelima, diketahui bahwa ada perbedaan *massa* bioselulosa secara signifikan diantara konsentrasi 5% dan 10% serta 5% dan 15% ( $p < 0,001$ ). Selain itu, tidak ada perbedaan *massa* bioselulosa secara signifikan diantara konsentrasi 10% dan 15% dengan ( $p = 0,127$ ).
- b. Pada produksi bioselulosa hari kesepuluh, diketahui bahwa ada perbedaan *massa* bioselulosa secara signifikan diantara semua konsentrasi ( $p < 0,001$ )
- c. Pada produksi bioselulosa hari kelima belas, diketahui bahwa ada perbedaan *massa* bioselulosa secara signifikan diantara semua konsentrasi ( $p < 0,001$ ;  $p = 0,003$ ;  $p = 0,024$ ) meskipun nilainya lebih rendah dibandingkan pada produksi bioselulosa hari kesepuluh

Dari analisis statistik yang dilakukan menunjukkan bahwa ada faktor-faktor yang mempengaruhi produksi bioselulosa seperti lama fermentasi dan konsentrasi inokulum. Konsentrasi isolat yang meningkat hingga 15% membuat adanya peningkatan massa bioselulosa karena semakin tinggi jumlah bakteri, maka bakteri tersebut akan lebih tinggi menghasilkan lebih banyak enzim dan metabolit yang mendukung pembentukan selulosa. Namun, peningkatan lama produksi dari 10 ke 15 hari tidak menunjukkan peningkatan signifikan yang kemungkinan disebabkan oleh terbatasnya jumlah sumber nutrisi dalam lingkungan atau medium dan bakteri mengalami inaktivasi. Hal ini membuat produksi bioselulosa tidak lagi meningkat secara signifikan.

#### **4.5 Karakterisasi Bioselulosa**

Pada penelitian ini, beberapa karakterisasi dilakukan pada kondisi bioselulosa yang paling optimal, kecuali uji pH.

##### **4.5.1 Pengujian organoleptis bioselulosa**

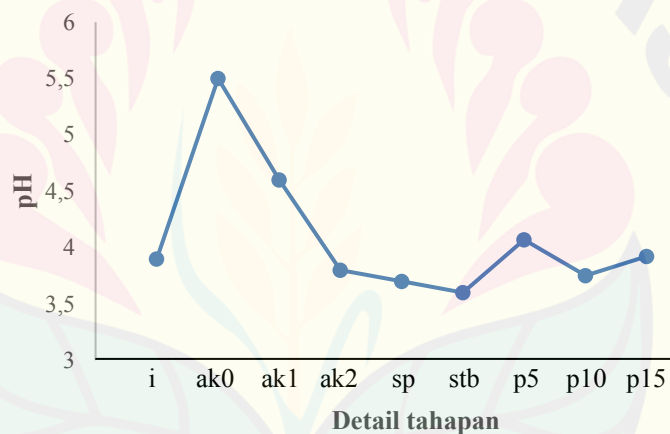
Pengujian organoleptis dilakukan secara visual. Hasil dari produksi bioselulosa dapat dilihat pada Gambar 4.6. Setelah bioselulosa terbentuk, diamati bahwa bioselulosa memiliki warna putih kuning pucat, berbau asam, permukaan halus, basah berlendir, padat, dan fleksibel. Hal ini sesuai dengan visualisasi bioselulosa penelitian Kasim dan Rahman (2016).



Gambar 4.6 Visualisasi bioselulosa

#### 4.5.2 Determinasi pH

Determinasi pH dilakukan untuk mengetahui stabilitas produk, umur simpan, dan potensi pengaplikasian produk. Pengujian pH dilakukan menggunakan pH universal dan pH meter. Hasil dokumentasi determinasi pH dari produksi bioselulosa dapat dilihat pada Lampiran 4.4, dan grafiknya dapat dilihat pada Gambar 4.7.



\*i: isolat Als1; ak0: air kelapa H+0; ak1: air kelapa H+1; ak2: air kelapa H+2; sp: setelah dipanaskan; stb: setelah ditambah bahan; p5: produksi hari ke-5; p10: produksi hari ke-10; p15: produksi hari ke-15

Gambar 4.7 pH tahapan produksi bioselulosa

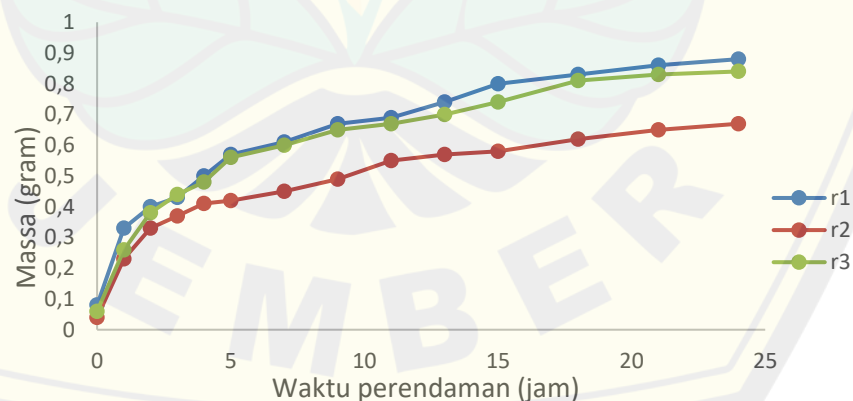
Hasil data tersebut menyatakan bahwa penyimpanan air kelapa selama 2-3 hari dan penambahan bahan seperti asam asetat glasial membuat pH menjadi lebih asam. Hal ini diperlukan untuk memaksimalkan pertumbuhan bakteri. Bakteri ini tumbuh di rentang pH 3,5-8,5 (Endo dan Okada, 2007). Kondisi lingkungan yang asam dibutuhkan untuk mencegah terjadinya kontaminasi jamur, ragi, dan atau bakteri lain yang dapat

mengganggu pertumbuhan bakteri menghasilkan selulosa (Lathifah dan Nuryana, 2021). Bioselulosa cepat diproduksi di pH 3,5-7,0 dengan laju produksi tertinggi di pH 4,5-6,0 (Zahan dkk., 2015). Hal ini menyatakan bahwa isolat Als1 memenuhi syarat rentang pH kondisi produksi bioselulosa (pH 3,60-4,07).

Di hari ke-5 produksi bioselulosa, didapatkan pH 4,07 yang artinya pH mengalami kenaikan. Hal ini kemungkinan besar dikarenakan isolat Als1 (pH 3,9) masih menyesuaikan diri dengan media (pH 3,6). Di hari ke-10 produksi bioselulosa, didapatkan pH 3,75 yang artinya pH mengalami penurunan karena bakteri secara aktif menghasilkan asam laktat karena penggunaan gula atau sumber karbon. Di hari ke-15 produksi bioselulosa, didapatkan pH 3,93 yang artinya pH mengalami kenaikan karena sumber karbon dan nitrogen mulai habis sehingga produksi asam laktat berkurang dan membuat bakteri mengalami inaktivasi.

#### 4.5.3 Determinasi *swelling index* bioselulosa

Determinasi *swelling index* dilakukan untuk menentukan kemampuan produk dalam menyerap air dan potensi penerapannya. Grafik data determinasi *swelling index* dapat dilihat di Gambar 4.8 dan data lengkapnya dapat dilihat di Lampiran 4.5. Hasil determinasi *swelling index* bioselulosa dapat dilihat pada Tabel 4.4.



Gambar 4.8 *Swelling index* bioselulosa pada berbagai waktu perendaman

Tabel 4.4 Hasil determinasi swelling index bioselulosa

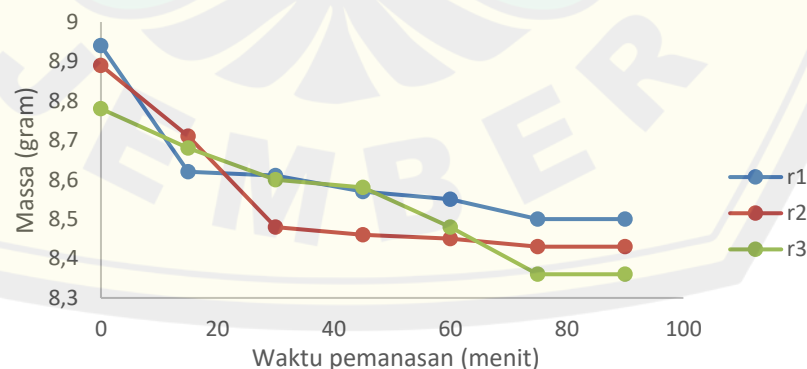
Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Presentase (%) $\pm$ SD
1	0,080	0,880	648,617 $\pm$ 299,474
2	0,040	0,670	1040,930 $\pm$ 454,799
3	0,060	0,840	851,832 $\pm$ 394,796

Dari grafik data determinasi *swelling index* bioselulosa, dapat diketahui bahwa semakin lama perendaman dilakukan, maka semakin berat *massa* bioselulosa. Hal ini bisa terjadi karena struktur bioselulosa yang berserat. Pada serat atau rantai polimer bioselulosa ini, gugus polar berinteraksi dengan molekul air melalui ikatan hidrogen. Hal ini membuat meningkatnya derajat *swelling index* dan volume bioselulosa (Ningsih dkk., 2024). Sehingga secara teoritis, grafik data *swelling index* penelitian ini sesuai.

Kadar penyerapan air selulosa lokal sekitar 90-350% (Ningsih dkk., 2024) dan yang sangat baik 300% hingga 600% (Dobre dkk., 2010). Dari hasil penelitian, diketahui bahwa kadar penyerapan air bioselulosa sangat baik sehingga berpotensi menjadi produk sediaan farmasi yang menghidrasi dan dapat diimpregnasi dengan bahan aktif lainnya.

#### 4.5.4 Determinasi kadar air bioselulosa

Determinasi kadar air dilakukan untuk mengetahui tekstur produk, umur simpan, dan potensi kandungan bahan yang dapat diserap. Grafik data determinasi kadar air dapat dilihat di Gambar 4.9 dan Lampiran 4.6. Hasil determinasi kadar air bioselulosa dapat dilihat pada Tabel 4.5.



Gambar 4.9 Kadar air bioselulosa pada berbagai waktu pemanasan

Tabel 4.5 Hasil determinasi kadar air bioselulosa

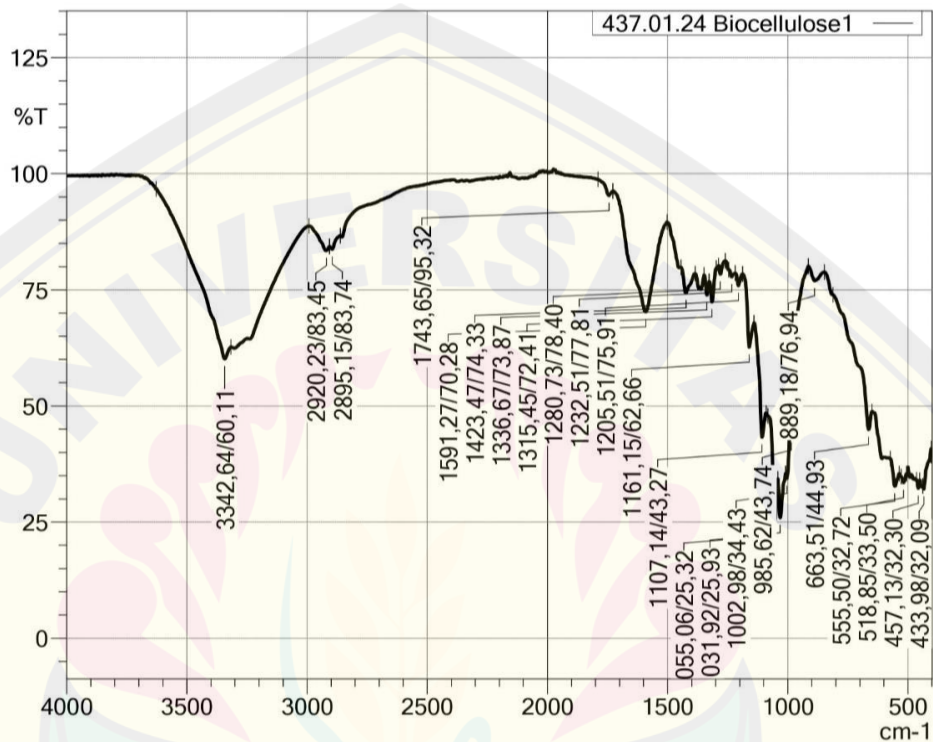
Replikasi	Berat awal (g)	Berat akhir (g)	Presentase (%) $\pm$ SD
1	8,940	8,090	7,021 $\pm$ 1,980
2	8,890	8,000	7,475 $\pm$ 2,442
3	8,780	8,060	6,997 $\pm$ 1,397

Dari grafik data determinasi kadar air bioselulosa, dapat diketahui bahwa semakin lama pemanasan dilakukan, maka semakin ringan *massa* bioselulosa. Hal ini bisa terjadi karena struktur bioselulosa terdiri dari komponen polisakarida yang memiliki sifat hidrofilik alami sehingga memungkinkan adanya interaksi dengan kelembaban sekitar. Kelompok polar ini menghasilkan kapasitas menahan air yang tinggi. Sehingga jika jumlah serat tinggi dan jumlah kelompok polar tinggi, maka akan menghasilkan kadar air yang tinggi (Ningsih dkk., 2024). Dalam penelitian ini, dilakukan pemanasan sehingga kelembaban yang diserap bioselulosa dari sekitar berkurang. Karena air dari kelembaban sekitar terus berkurang, maka jumlah kelompok polar yang berinteraksi berkurang, menyisakan serat bioselulosa tanpa adanya berat tambahan air dari kelembaban sekitar. Sehingga secara teoritis, grafik data kadar air penelitian ini sesuai.

Hasil kadar air yang dilakukan memenuhi syarat rentang kadar air bioselulosa kering yang baik untuk formulasi sediaan farmasi yakni 5-10% (Ningsih dkk., 2024). Jika kadar air dibawah syarat, maka sifat hidrofilik dan kapasitas penyerapan produk menurun. Jika kadar air diatas syarat, maka akan berpengaruh terhadap tekstur dan umur simpan bioselulosa dikarenakan kadar air yang tinggi menciptakan lingkungan yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme serta membuat tekstur produk menjadi lembek dan tidak stabil sehingga menyebabkan pembusukan dan penurunan kualitas produk. Kadar air yang memenuhi syarat akan membuat kelembaban selulosa menjadi lebih konsisten. Hal ini berkontribusi dalam menjaga hidrasi kulit dan meningkatkan penyembuhan luka.

#### 4.5.5 Analisis FTIR dan SEM

Analisis FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi komposisi kimia produk dengan melewati radiasi *infrared* dan mengukur penyerapan panjang gelombang tertentu. Hasil spektrum FTIR bioselulosa dapat dilihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Hasil Spektrum FTIR Bioselulosa

Dari analisis FTIR di range pengukuran  $4000\text{-}500\text{ cm}^{-1}$  dan resolusi  $4\text{ cm}^{-1}$  didapatkan data puncak gelombang, lihat Lampiran 4.7. Hasil spektrum FTIR penelitian ini sesuai dengan hasil spektrum FTIR *BC sheet* penelitian Bektas dan Yildirim (2025). Dari berbagai puncak gelombang hasil FTIR, terdapat beberapa puncak yang penting yang dapat diinterpretasikan, lihat Tabel 4.7.

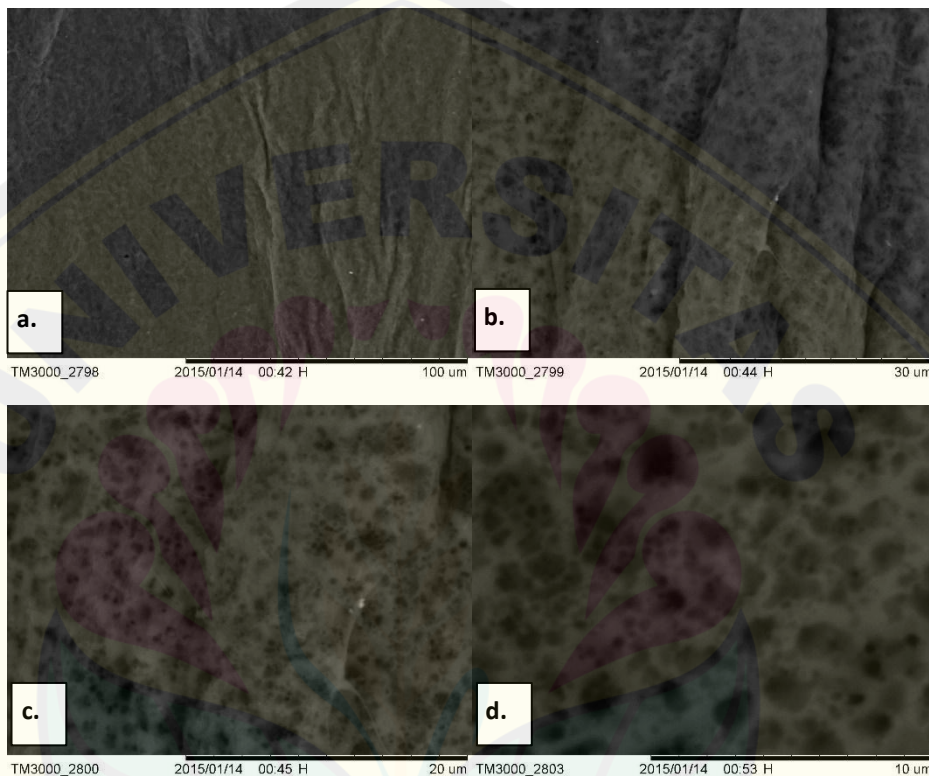
Tabel 4.6 Interpretasi puncak FTIR

Puncak gelombang (cm <sup>-1</sup> )	Kemungkinan Gugus Fungsional	Referensi
3342,64	O-H stretch (hidroksil/ air/ selulosa)	a, b, c, d, e, f, g
2920,23 & 2895,15	C-H stretch (CH <sub>2</sub> , CH <sub>3</sub> pada selulosa)	a, b, d, e, f, g
1423,27	Bagian yang berhubungan dengan jumlah struktur kristalin pada selulosa	c, d
1336,67 & 1315,45	C-H deformation (CH <sub>3</sub> or O-H in plane bending pada selulosa)	a, c, d, e, f
1161,15-985,62	C-O stretch (alkohol sekunder di selulosa) C-O-C antisymmetric bridge stretching of 1,4-β-d-glucoside (glikosidik) C-C yang khas diproduksi oleh monokultur	a, b, c, d, e, f, g
≤ 889,18	Sifat kristal bioselulosa	c, d

\*(Pacheco dkk., 2018<sup>a</sup>; Potivara dan Phisalaphong, 2019<sup>b</sup>; Khan dkk., 2020<sup>c</sup>; Lahiri dkk., 2021<sup>d</sup>; Jiang dkk., 2023<sup>e</sup>; Yosboonruang dkk., 2023<sup>f</sup>; Bektas dan Yildirim, 2025<sup>g</sup>).

Puncak gelombang penelitian ini sesuai dengan literatur puncak spektrum FTIR bioselulosa yang ada. Pada puncak 3000-3600cm<sup>-1</sup>, merupakan puncak intens yang berkaitan dengan vibrasi peregangan -OH (Jiang dkk., 2023). Pada puncak 2900-2800cm<sup>-1</sup>, merupakan peregangan C-H (Potivara dan Phisalaphong, 2019). Puncak 1430-1420cm<sup>-1</sup> berhubungan dengan jumlah struktur kristalin pada selulosa (Khan dkk., 2020). Puncak 1423-1315cm<sup>-1</sup> berkaitan dengan deformasi C-H (Pacheco dkk., 2018). Pada puncak 1205,51-900cm<sup>-1</sup>, merupakan daerah perenggangan C-O dan C-C khas yang diproduksi monokultur (Jiang dkk., 2023). Sedangkan puncak 897cm<sup>-1</sup> dan juga daerah yang berfrekuensi rendah seperti di bawah 600cm<sup>-1</sup>, mencerminkan sifat kristal bioselulosa dan berbagai interaksi molekulnya (Khan dkk., 2020; Bektas dan Yildirim, 2025). Interpretasi ini mengkonfirmasi keberhasilan produksi selulosa bakteri dan komposisi kimia serta potensi penerapannya.

Analisis SEM (*Scanning Electron Microscopy*) dilakukan untuk memvisualisasikan morfologi permukaan produk dengan memindai permukaan produk menggunakan berkas elektron terfokus. Hasil yang berupa gambar beresolusi tinggi digunakan untuk mengevaluasi tekstur, struktur, dan cacat atau kontaminan produk. Hasil SEM bioselulosa dapat dilihat di Gambar 4.11.



\*perbesaran: a. 1000x; b. 3000x; c. 5000x; dan d. 10000x

Gambar 4.11 Hasil SEM bioselulosa

Dari hasil SEM bioselulosa, dapat dilihat bahwa bioselulosa memiliki jaringan tiga dimensi yang saling terhubung heterogen. Teksturnya terlihat jelas yang terdiri dari serat-serat nano selulosa yang acak. Struktur ini berkontribusi pada sifat-sifat bioselulosa seperti kapasitas penyerapannya yang tinggi. Hasil SEM ini sesuai seperti penelitian Bektas dan Yildirim (2025).

## BAB 5. PENUTUP

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Identitas bakteri penghasil selulosa yang ditemukan di lingkungan lokal kabupaten Jember (Isolat Als1) yang paling mendekati adalah *Lactobacillus parafarraginis*.
2. Produksi bioselulosa dipengaruhi beberapa faktor, yakni: konsentrasi isolat Als1 dan lama produksi. Produksi bioselulosa yang paling optimal di konsentrasi isolat Als1 15% selama 10 hari lama produksi.
3. Karakteristik bioselulosa dari segi organoleptis dan pH yang sesuai dengan literatur, *swelling index* yang sangat baik, dan kadar air yang memenuhi syarat menyatakan bahwa bioselulosa sangat berpotensi menjadi sediaan farmasi. Hasil analisis FTIR dan SEM bioselulosa sesuai dengan literatur dan tidak ada kecacatan maupun kontaminan.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan ditemukan beberapa saran untuk penelitian selanjutnya yaitu:

1. Perlu dilakukan optimasi pengaruh bahan tambahan terhadap ekspresi bioselulosa
2. Perlu dilakukan uji stabilitas pada bioselulosa
3. Perlu dilakukan uji aplikasi atau pemanfaatan bioselulosa di bidang kefarmasian

## DAFTAR PUSTAKA

- Akihary, C. V. dan B. J. Kolondam. 2020. Utilization of the 16S rRNA gene as a bacterial identification device for research in indonesia. *Pharmacon*. 9(1):16–22.
- Baker, G. C., J. J. Smith, dan D. A. Cowan. 2003. Review and re-analysis of domain-specific {16s} primers. *Journal of Microbiological Methods*. 55(3):541–555.
- Bektas, I. dan N. B. Yildirim. 2025. Molecular characterization of bacterial cellulose producing bacillus strains isolated from soil. *Journal of Basic Microbiology*. 65(6)
- Berlanga, M. 2014. Brock biology of. (May):12–14.
- Betlej, I., K. J. Krajewski, P. Boruszewski, dan S. Zakaria. 2021. Bacterial cellulose-properties and its potential application. *Sains Malaysiana*. 50(2):493–505.
- Boby, C. A., S. Muhsinin, dan A. Roni. 2021. Review: produksi, karakterisasi dan aplikasi selulosa bakteri di bidang farmasi. *JOPS (Journal Of Pharmacy and Science)*. 4(2):12–28.
- Clarridge, J. E. 2004. Impact of {16s rrna} gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 17(4):840–862.
- Cook, V. J., C. Y. Turenne, J. Wolfe, R. Pauls, dan A. Kabani. 2003. Conventional methods versus 16S ribosomal DNA sequencing for identification of nontuberculous mycobacteria: cost analysis. *Journal of Clinical Microbiology*. 41(3):1010–1015.
- Dobre, L. M., A. Stoica, M. Stroescu, S. Jinga, I. Jipa, dan T. Dobre. 2010. Characterization of composite materials based on biocellulose membranes impregnated with silver particles as antimicrobial agent. *UPB Scientific Bulletin, Series B: Chemistry and Materials Science*. 72(4):55–64.
- Endo, A. dan S. Okada. 2007. *Lactobacillus farraginis* sp. nov. and *Lactobacillus parafarraginis* sp. nov., heterofermentative lactobacilli isolated from a compost of distilled shochu residue. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 57(4):708–712.
- Gorgieva, S. dan J. Trček. 2019. Bacterial cellulose: production, modification and perspectives in biomedical applications. *Nanomaterials*. 9(10):1–20.
- Horue, M., J. M. Silva, I. R. Berti, L. R. Brandão, H. da S. Barud, dan G. R. Castro. 2023. Bacterial cellulose-based materials as dressings for wound healing. *Pharmaceutics*. 15(2):1–26.
- Irawati, W., P. P. Ambarita, D. L. Sihombing, V. E. S. Ruth Advenita, dan E. B. Marvella. 2022. Isolation and characterization of indigenous copper resistant bacteria from Yogyakarta tannery factory waste. *Jurnal Biologi Tropis*. 22(3):795–802.
- Jiang, H., Z. Song, Y. Hao, X. Hu, X. Lin, S. Liu, dan C. Li. 2023. Effect of co-culture of *Komagataeibacter nataicola* and selected *Lactobacillus fermentum* on the production and characterization of bacterial cellulose. *Lwt*. 173(November 2022):114224.

- Kamarudin, S., K. Mohd Sahaid, T. Mohd Sobri, W. Y. Wan Mohtar, A. B. Dayang Radiah, dan H. Norhasliza. 2013. Different media formulation on biocellulose production by *Acetobacter xylinum* (0416). *Pertanika Journal of Science and Technology*. 21(1):29–36.
- Kasim, N. dan N. A. Rahman. 2016. Design and production control of biocellulose from *Acetobacter xylinum*. *Indian Journal of Science and Technology*. 9(21)
- Khan, H., A. Kadam, dan D. Dutt. 2020. Studies on bacterial cellulose produced by a novel strain of *Lactobacillus* genus. *Carbohydrate Polymers*. 229(June):115513.
- Lahiri, D., M. Nag, B. Dutta, A. Dey, T. Sarkar, S. Pati, H. A. Edinur, Z. A. Kari, N. H. M. Noor, dan R. R. Ray. 2021. Bacterial cellulose: production, characterization and application as antimicrobial agent. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(23):1–18.
- Lathifah, A. N. dan I. Nuryana. 2021. Bacterial cellulose production in the overripe guava juice by *Acetobacter xylinum* as a solution to reduce organic waste. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 23(2):41–48.
- Li, G., L. Wang, Y. Deng, dan Q. Wei. 2022. Research progress of the biosynthetic strains and pathways of bacterial cellulose. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 49(1)
- Liu, Q. H., F. Y. Yang, J. G. Zhang, dan T. Shao. 2014. Characteristics of *Lactobacillus parafarraginis* zh1 and its role in improving the aerobic stability of silages. *Journal of Applied Microbiology*. 117(2):405–416.
- Mahestri, L., E. Harpeni, dan A. Setyawan. 2021. Isolasi dan penapisan bakteri termofilik pemecah amilum dan protein dari sumber air panas way panas kalianda Lampung selatan. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*. 26(3):161.
- Margaretty, E., E. Dewi, L. Kalsum, A. S. Ningsih, dan J. M. Amin. 2021. Effect of sugar, ammonium sulfate and magnesium sulfate as supplementary nutrients in coconut water fermented by *Acetobacter xylinum* to produce biocellulose membranes. *Proceedings of the 4th Forum in Research, Science, and Technology (FIRST-T1-T2-2020)*. 7:89–94.
- Marquele-Oliveira, F., H. da Silva Barud, E. C. Torres, R. T. A. Machado, G. F. Caetano, M. N. Leite, M. A. C. Frade, S. J. L. Ribeiro, dan A. A. Berretta. 2019. Development, characterization and pre-clinical trials of an innovative wound healing dressing based on propolis (epp-af®)-containing self-microemulsifying formulation incorporated in biocellulose membranes. *International Journal of Biological Macromolecules*. 136:570–578.
- Mohainin Mohammad, S., N. Abd Rahman, M. Sahaid Khalil, dan S. Rozaimah Sheikh Abdullah. 2014. An overview of biocellulose production using *Acetobacter xylinum* culture. *Advances in Biological Research*. 8(6):307–313.
- Ningsih, I. Y., M. A. Hidayat, B. Kuswandi, dan T. Erawati. 2024. Effect of coconut water storage time and inoculum size of *Lentilactobacillus parafarraginis* on dried bacterial cellulose properties. *Tropical Journal of Natural Product Research*. 8(2):6291–6299.
- Pacheco, G., C. V. de Mello, B. G. Chiari-Andréo, V. L. B. Isaac, S. J. L. Ribeiro, É. Pecoraro, dan E. Trovatti. 2018. Bacterial cellulose skin masks—properties and sensory tests. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 17(5):840–847.

- Potivara, K. dan M. Phisalaphong. 2019. Development and characterization of bacterial cellulose reinforced with natural rubber. *Materials*. 12(14)
- Rackov, N., N. Janßen, A. Akkache, B. Drotleff, B. Beyer, E. Scoppola, N. E. Vrana, R. Hengge, C. M. Bidan, dan S. Hathroubi. 2025. Bacterial cellulose: enhancing productivity and material properties through repeated harvest. *Biofilm*. 9(December 2024)
- Raiszadeh-Jahromi, Y., M. Rezazadeh-Bari, H. Almasi, dan S. Amiri. 2020. Optimization of bacterial cellulose production by *Komagataeibacter xylinus* ptcc 1734 in a low-cost medium using optimal combined design. *Journal of Food Science and Technology*. 57(7):2524–2533.
- Sperotto, G., L. G. Stasiak, J. P. M. G. Godoi, N. C. Gabiatti, dan S. S. De Souza. 2021. A review of culture media for bacterial cellulose production: complex, chemically defined and minimal media modulations. *Cellulose*. 28(5):2649–2673.
- Stackebrandt, E. dan B. M. Goebel. 1994. Taxonomic note : a place for DNA-DNA reassociation and S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. 846–849.
- Suharjo, T. Ardyati, Z. Elok, Munawaroh, dan C. Pradani P. 2011. Produksi selulosa bakterial dari air buah kelapa dalam berbagai konsentrasi sukrosa dan urea (production of bacterial cellulose from coconut fruit water in the varies of sucrose and urea concentration). *Biologi, Sains, Lingkungan, Dan Pembelajarannya Menuju Pembangunan Karakter*. 124–128.
- Swingler, S., A. Gupta, H. Gibson, M. Kowalczyk, W. Heaselgrave, dan I. Radecka. 2021. Recent advances and applications of bacterial cellulose in biomedicine. *Polymers*. 13(3):1–29.
- Vu, D., M. Groenewald, M. de Vries, T. Gehrman, B. Stielow, U. Eberhardt, A. Al-Hatmi, J. Z. Groenewald, G. Cardinali, J. Houbraken, T. Boekhout, P. W. Crous, V. Robert, dan G. J. M. Verkley. 2019. Large-scale generation and analysis of filamentous fungal DNA barcodes boosts coverage for kingdom fungi and reveals thresholds for fungal species and higher taxon delimitation. *Studies in Mycology*. 92:135–154.
- Wibowo, N. A. 2015. POTENSI in-vivo selulosa bakterial sebagai nano-filler karet elastomer termoplastics ( etps ) in-vivo potency of bacterial cellulose as nano-filler elastomer thermoplastics rubber ( etps ). *Perspektif*. 14(2):103–112.
- Yanti, N. A., S. W. Ahmad, L. O. A. N. Ramadhan, A. Ardiansyah, dan I. Indrawati. 2024. Characteristics of biocellulose-based edible film from sago wastewater (*Metroxylon sago* rottb.) on various glycerol concentration. *AgriTECH*. 44(1):9.
- Yosboonruang, A., P. Phimnuan, S. Yakaew, B. Oonkhanond, A. Rawangkan, S. Ross, G. Ross, dan J. Viyoch. 2023. Development of biocellulose sheet incorporating aloe vera gel extract for diabetic wound healing. *ACS Omega*. 8(19):16824–16832.
- Zahan, K. A., N. Pa'e, dan I. I. Muhamad. 2015. Monitoring the effect of ph on bacterial cellulose production and *Acetobacter xylinum* 0416 growth in a rotary discs reactor. *Arabian Journal for Science and Engineering*. 40(7):1881–1885.

## LAMPIRAN

Lampiran 3.1. Prosedur Produksi Inokulum (*nata de coco*) dari Trinaco

1. Siapkan 1 liter air kelapa, kemudian inapkan pada suhu ruang selama 1-2 hari. Kemudian saring dan masukkan ke dalam panel dan dimasak hingga mendidih.
2. Saat mendidih, masukkan gula pasir 25gr (2SDM), ZA food grade 4-5gr (1/2 SDT), cuka 10mL (2SDM). Perbandingan tersebut busa digunakan dengan perbandingan skala yang lebih besar, kemudian aduk rata
3. Buang buih jika muncul pada permukaan rebusan air kelapa, kemudian angkat panis
4. Tuangkan air kelapa yang sudah dimasak (selagi panas) kedalam nampan/ baki yang sudah disiapkan atau dirangkai dengan penutup koran/ kertas sedemikian rupa. Setelah itu, tutup rapat baki pembibitan dengan kertas koran yang sudah dipasang (pakai karet/ lakban)
5. Tunggu adonan air kelapa sampai dingin (kurang lebih 30C atau sama dengan suhu ruang)
6. Buka ujung kertas penutup nampan tadi, kemudian tuangkan bibit nata, untuk ukuran 1L sekitar 10 mL atau lebih. Tuang langsung **tanpa perantara** dan diaduk (menghindari kontaminasi)
7. Tutup rapat, jangan sampai ada debu, kotoran, atau binatang kecil masuk. Simpan dan susun baki secara rapi. Baki pembibitan nata tidak boleh terganggu atau tergoyang selama proses fermentasi
8. Biarkan baki pembibitan setelah 7 hari atau lebih (10 hari) jika masih nampak tipis
9. Buka baki nata hasil pembibitan setelah waktu dianggap cukup. Lembaran nata baru panen berlendir, beraroma asam, dan kadang kurang sedap.

## Lampiran 3.2. Detail Definisi Operasional

d. **Inokulum lokal** dari Industri Nata De Coco “UD. S. Wiaji Wira Mandiri (swm)”

Identitas Pemilik: Bapak Mujianto dan Ibu Wiwik Mutiaroh

Alamat: Dusun Gumuk Limo, RT013/RW015, Nogosari, Rambipuji, Jember

Identitas bakteri: dikatakan termasuk *Acetobacter sp.*

Hasil produksi:  $\pm 30$  botol biakan/ minggu

**Tahapan produksi bioselulosa:**

1. Siapkan alat dan bahan
  2. Air kelapa bervolume 120 liter didiamkan selama 1-2 minggu
  3. Air kelapa disaring lalu dipanaskan hingga mendidih
  4. Air kelapa ditambahkan 2 kg gula, 4 sendok makan ZA, dan 600 mL cuka
  5. Larutan diaduk hingga tercampur rata selama 10 menit
  6. Larutan dimasukkan kedalam botol (biakan) atau ember (dijual) bersih (sudah steril dengan disiram air panas) dan segera tutup wadah dengan koran atau kertas samak yang bersih
  7. Larutan ditunggu hingga dingin
  8. Biakan atau starter ditambahkan
  9. Larutan disimpan di tempat gelap yang tidak terpapar sinar matahari
- e. **Air kelapa** dari “Slep Kelapa & Nyiur + Singkong” Pasar Tanjung, Jember.

Identitas Pemilik: Ibu dan Bapak Leli

Alamat: Pasar Tanjung, Jember

Identitas air kelapa: dikatakan berasal dari Sempolan, Silo, Jember

f. **Dua medium pertumbuhan**

- o Komposisi pembuatan complex medium HS (Hestrin & Schramm)

Bahan	Komposisi
Asam sitrat	0,0115 g
Disodium fosfat	0,0270 g
• Disodium hidrogen fosfat dihidrat	• 0,0339 g
Glukosa	0,2000 g
Pepton	0,0500 g
Yeast ekstrak	0,0500 g
Akuades	10,0000 mL
Agar	0,4000 g (4%)

- Prosedur medium campuran air kelapa yang digunakan
  1. Disiapkan 1000 mL air kelapa yang dibiarkan 2-3 hari, lalu disaring.
  2. Air kelapa dipanaskan di *hotplate* suhu 175°C selama 10 menit.
  3. Air kelapa diangkat dan ditunggu selama 5 menit.
  4. Kemudian ditambahkan 25 gram gula pasir; 5 gram ammonium sulfat; 10 mL asam asetat glasial dan diaduk hingga homogen.
  5. 50mL larutan dimasukkan ke dalam masing-masing erlenmeyer 250mL dengan jumlah total 18 erlenmeyer.
  6. Larutan disterilkan dengan autoklaf.
  7. Setelah dingin, inokulum bakteri ditambahkan dalam larutan di *LAF* dengan kuantitas tertentu.
  8. Kultur disimpan di ruang gelap, di suhu ruang ( $\pm 30^{\circ}\text{C}$ ), dan ditempat yang terpapar oksigen hingga membentuk bioselulosa dalam waktu tertentu

## Lampiran 4.1. Laporan Hasil Uji Identifikasi Molekuler

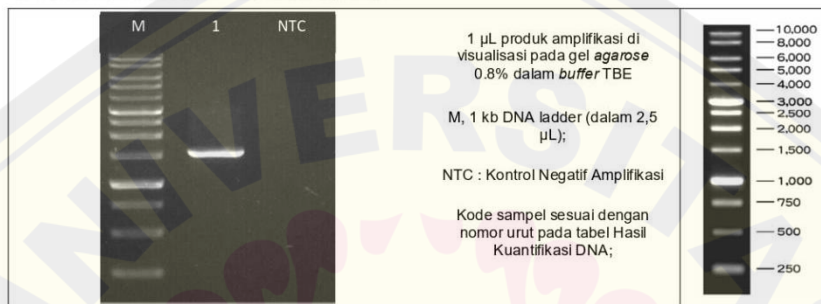
 <b>Genetika Science</b>		<b>LABORATORIUM PENGUJIAN</b> PT. GENETIKA SCIENCE INDONESIA	
<b>LAPORAN HASIL UJI</b> No GSI/GMS-3438			
<b>INFORMASI PELANGGAN (CUSTOMER INFORMATION)</b>			
Evi Umayah Ulfa Fakultas Farmasi Universitas Jember		Order ID Layanan : GMS – 3438 Jenis pengujian : DNA Barcoding Service	
Telp : - HP : 0331-324736 Email : evi.farmasi@unej.ac.id		Tanggal terima order : 31/08/2024 Tanggal Pengujian : 04/09/2024 Tanggal penerbitan laporan : 11/09/2024	
<b>INFORMASI SAMPEL (SAMPLE INFORMATION)</b>			
Nama sampel : <i>Alsa1</i> Jumlah Sampel : 1 Gen Target : 16S rRNA Ukuran gen target : ~1400bp			
<b>METODE PENGUJIAN (METHODS)</b>			
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ekstraksi DNA dilakukan menggunakan kit Quick-DNA Magbead Plus Kit (Zymo Research, D4082) (B/7.2.1/IKP/009)</li> <li>2. Amplifikasi DNA menggunakan kit MyTaq HS Red Mix, 2X (Bioline, BIO-25048) (B/7.2.1/IKP/002)</li> <li>3. Elektroforesis produk amplifikasi Gen 16S (B/7.2.1/IKP/005)</li> <li>4. Sekuensing dua arah menggunakan metode <i>Sanger DNA Sequencing by using Capillary Electrophoresis</i> (Pengujian Lab Subkontrak 1st BASE)</li> <li>5. Analisis Bioinformatika hasil Sanger Sequencing (B/7.2.1/IKP/006)</li> </ol>			
Rukan Great Wall Blok C 19-21, Green Lake City, Kel. Petir, Kec. Cipondoh, Kota Tangerang, Banten, 15147, Indonesia. T. 021 5433 2034, 021 5433 2425, 021 5433 2701   F. 021 5433 2701   <a href="mailto:info@ptgenetika.com">info@ptgenetika.com</a>   <a href="http://www.ptgenetika.com">www.ptgenetika.com</a>			
B/7.8.0/FM/099		Halaman 1 dari 6	

**HASIL PENGUJIAN**

**1. Hasil Kuantifikasi DNA menggunakan Nanodrop**

No.	Nama Sampel	Kode Sampel	Konsentrasi (ng/μl)	A <sub>260/280</sub>	A <sub>260/230</sub>	Volume (μl)
1.	<i>Alsa1</i>	G-3438-1	12.9	2.07	1.20	45

**2. Gambar Elektroforesis – Produk Amplifikasi**



**3. Hasil Sequence Assembly – Produk amplifikasi**

No	Kode sampel	Sekuens
		<b>Sequence assembly 1424 bp</b>
1.	G-3438-1	1 TGCAGTCGAA CGCGTCTTGG TTAATGATGT TAGGTGCTTG CATTTAAC TG ATTTAACATT 61 GAGACGAGTG GCGAACTGGT GAGTAACACG TGGGTAACCT GCCCTGAAGT GGGGGATAAC 121 ACTTGGAAC AGGTGCTAAT ACCGCATAAC AACGAAAACC ACATGGTTTT CGTTTGAAAG 181 ATGGCTTCGG CTGTCACTTT TGGATGGACC CGCGGCSTAT TAGCTTGTG GTGAGGTAAC 241 GGCTCACAA GGCCATGATA CGTAGCCGAC CTGAGAGGGT AATCGGCCAC ATTGGGACTG 301 AGACACGGCC CAAACTCCTA CGGAGGGCAG CAGTAGGGAA TCTCCACAA TGGACGAAAG 361 TCTGATGGAG CAACGCCGCG TARGTGATGA AGGTTTCGG CTCGTA AAC TCTGTTGTTG 421 GAGAAGAACA GGTGATAGAG TAACTGTAT CATCTTGACG GTATCCAAAC AGAAAGCCAC 481 GGCTAACTAC GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT ACGTAGGTGG CAAGCGTTGT CCGGATTTAT 541 TGGCGTAAA GCGAGCGCAG GCGGTTTTTT AGGTCTGAT TGAAGCCTT CCGGTTAAC 601 GGAGAAGGGC ATCGGAACC GGGAGACTTG AGTGCAAGAG AGGACAGTGG AACTCCATGT 661 GTAGCGTGA AATGGGTAGA TATATGGAAG AACCCAGTG GCGAAGGCGG CTGTCTGGTC 721 TGTAAGTAC GCTGAGGCTC GAAAGCATGG GTAGCGAACA GGATAGATA CCCTGGTAGT 781 CCATGCCGTA AACGATGAGT GCTAAGTGTG GGAGGTTTC CGCCCTTCAG TGCTGACGCT 841 AACGATTAA GCACTCCGCC TGGGGAGTAC GACCGCAAGG TTGAACTCA AAGGAATTGA 901 CGGGGGCCCG CACAAGCGGT GGAGCATGTG GTTTAATTCG ATGCTACGCG AAGAACCTTA 961 CCAGGTCTTG ACATCTCTG TAACTTAAG AGATTAGGCG TTCCTTCGG GGACGGAATG 1021 ACAGGTGGTG CATGTTGTC GTCAGCTCGT GTCGTGAGAT GTTGGGTTAA CTCGCCAAC 1081 GAGCGCAACC CTTATTGTCA GTTGCCAGCA TTAGTTGGG CACTCTGGCG AGACTGCGCG

Rukan Great Wall Blok C 19-21, Green Lake City, Kel. Petir,  
 Kec. Cipondoh, Kota Tangerang, Banten, 15147, Indonesia.  
 T. 021 5433 2034, 021 5433 2425, 021 5433 2701 | F. 021 5433 2701 |  
[info@ptgenetika.com](mailto:info@ptgenetika.com) | [www.ptgenetika.com](http://www.ptgenetika.com)



LABORATORIUM PENGUJIAN

PT. GENETIKA SCIENCE INDONESIA

No	Kode sampel	Sekuens					
1 141		TGACAAACCG	GAGGAAGGTG	GGGATGACGT	CAAAATCATCA	TGCCCCCTTAT	GACCTGGGGT
1 201		ACACACGTGC	TACAATGGAC	GGTACAACGA	GTCGCGAAAC	CGCGAGGTCA	AGCTAATCTC
1 261		TTAAAGCCGT	TCTCAGTTCG	GATTGCAGGC	TGCAACTCGC	CTGCATGAAG	TTGGAATCGC
1 321		TAGTAATCGT	GGATCAGCAT	GCCACGGTGA	ATACGTTCCG	GGGCCTTGA	CACACGCC
1 381		GTCACACCAT	GAGAGTTTGT	AACACCCAAA	GCCGGTGAGG	TAAC	

4. Hasil Top 10 Hit BLAST terhadap NCBI, Excluding Uncultured Sample Sequences

No	Kode Sampel	Tautan Hasil						
1.	G-3438-1	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Accession
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain F2056.16S rDNA gene partial sequence	2630	2630	100%	0.0	100.00%	MF418051.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain OCLP1.16S rDNA gene partial sequence	2630	2630	100%	0.0	100.00%	MF050561.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain SDAAC150390.16S rDNA gene partial sequence	2630	2630	100%	0.0	100.00%	MF160883.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain CG117.1.16S rDNA gene partial sequence	2630	2630	100%	0.0	100.00%	MG466896.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain 1552.16S rDNA gene partial sequence	2630	2630	100%	0.0	100.00%	MF0784681.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain NY04.V1267.16S rDNA gene partial sequence	2628	2628	99%	0.0	100.00%	MG462171.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain H04A568317.16S rDNA gene partial sequence	2625	2625	100%	0.0	99.93%	MG204679.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain TCD24.16S rDNA gene partial sequence	2625	2625	100%	0.0	99.93%	CF178869.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain Z11.16S rDNA gene partial sequence	2625	2625	99%	0.0	100.00%	MF051661.1
<input checked="" type="checkbox"/> Lactobacillus sanfranciscensis strain NHC_0877.16S rDNA gene partial sequence	2625	2625	100%	0.0	99.93%	MF_041868.1		
<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KF418824.1.MK605951.1.MF159080.1.MG646896.1.MN784681.1.MG462171.1.ON204570.1.KF312685.1.JN987663.1.NR_041468.1">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KF418824.1.MK605951.1.MF159080.1.MG646896.1.MN784681.1.MG462171.1.ON204570.1.KF312685.1.JN987663.1.NR_041468.1</a>								
Limited to Acetobacter sp:								
		Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per Ident	Accession
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus.16S rDNA gene strain AUC25	1772	1772	95%	0.0	90.23%	FM177681.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus.16S rDNA gene strain AUC13	1751	1751	95%	0.0	89.96%	FM177661.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus.16S rDNA gene strain AUC17	1749	1749	95%	0.0	89.90%	FM177671.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus strain APBSMB7.16S rDNA gene partial sequence	1746	1746	95%	0.0	89.88%	MG205796.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus.16S rDNA gene strain AUC29	1735	1735	95%	0.0	89.73%	FM177691.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus.16S rDNA gene strain BAC24	1733	1733	95%	0.0	89.73%	FM177701.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus.16S rDNA gene strain CCM3614	1733	1733	95%	0.0	89.69%	FM178068.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus strain Y9824.16S rDNA gene partial sequence	1646	1646	95%	0.0	80.48%	KX313391.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus.16S rDNA gene strain CCM3612	1618	1618	95%	0.0	80.21%	FM178066.1
		<input checked="" type="checkbox"/> Acetobacter pasteurianus strain 16S.16S rDNA gene partial sequence	1618	1618	95%	0.0	80.21%	KC662507.1
<a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FM179768.1.FM179766.1.FM179767.1.MG705786.1.FM179769.1.FM179770.1.FM178868.1.KX831391.1.FM178866.1.KC662507.1">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/FM179768.1.FM179766.1.FM179767.1.MG705786.1.FM179769.1.FM179770.1.FM178868.1.KX831391.1.FM178866.1.KC662507.1</a>								

Pada kolom result link terdapat enam kolom informasi meliputi:

- 1) **Description (Deskripsi)** merupakan judul informasi yang biasanya terdiri dari genus, spesies, jenis strain, jenis fragmen gen/DNA, dan tipe kelengkapan sekuens DNA yang ditampilkan per informasi tersebut (partial sequence berarti hanya sebagian sekuens DNA dari total gen/fragmen yang sebenarnya, sedangkan full CDS adalah sekuens DNA pengkode gen yang lengkap)
- 2) **Max Score** adalah total nilai yang didapatkan dari penjejarian antara sekuens masukkan (*input sequence/query*) dengan sekuens database. Nilai tersebut didapatkan dari perhitungan matriks, yang merupakan matriks substitusi (*substitution matrix*)

Rukan Great Wall Blok C 19-21, Green Lake City, Kel. Petir,  
Kec. Cipondoh, Kota Tangerang, Banten, 15147, Indonesia.  
T. 021 5433 2034, 021 5433 2425, 021 5433 2701 | F. 021 5433 2701 |  
[info@ptgenetika.com](mailto:info@ptgenetika.com) | [www.ptgenetika.com](http://www.ptgenetika.com)



## LABORATORIUM PENGUJIAN

PT. GENETIKA SCIENCE INDONESIA

- 3) **Total Score** adalah total nilai yang didapatkan dari **semua** penjejajaran antara sekuens masukan (*input sequence/query*) dengan sekuens database yang sejajar. Nilai ini bisa berbeda dengan **max score** jika terdapat **lebih dari satu** penjejajaran yang terjadi
- 4) **Query Coverage** adalah persentase yang menggambarkan seberapa besar/panjang kesesuaian sekuens masukan jika dibandingkan dengan sekuens DNA target. Jika sekuens DNA masukan sepanjang/menyelimuti (*covering*) seluruh sekuens DNA target pada database NCBI, maka persentase tersebut adalah 100%.
- 5) **E Value** adalah merupakan nilai pengharapan (*expectation value*) merupakan suatu ukuran yang mana penjejajaran ini terjadi secara kebetulan (*by chance*). E value yang baik adalah mendekati nol. Sehingga tidak ada kemungkinan bahwa kejadian penjejajaran tersebut terjadi secara kebetulan
- 6) **Percentage Identity** merupakan suatu persentase yang menunjukkan seberapa sesuai antara sekuens DNA masukan dengan sekuens DNA target.  
**Untuk sampel mikroorganisma jika menggunakan marka 16S rRNA maka dikatakan identikal (similar) pada level spesies jika nilai "percentage identity" nya diatas 97.5%, dan pada level genus jika nilai "percentage identity" nya diatas 95%** (Stackebrandt and Goebel, 1994).

In the result link column there is six information as follows:

- 1) Description is annotation information about the genus, species, strain, gen fragment
  - 2) Max score is the alignment score between the query sequence and target sequence in the DNA database.
  - 3) Total score is the total score of all alignment that exists between query and target sequence in the DNA database. The total score can be different from the max score if the query sequence matches more than one site with the target sequence
  - 4) Query coverage is the percentage of the length of the query sequence with the target sequence. If the query sequence covers all of the target sequences then the query coverage is 100%
  - 5) E value is a number that describes how many times you would expect a match by chance in a database of that size. The lower the Evalue is, the more significant the match
  - 6) Percentage identity shows the similarity between the query sequence and target sequence. For microorganisms, using 16srRNA primers, similar to species level (above 97.5%), genus level (above 95%)
5. **Pohon filogenetik – Neighbor-Joining (Unrooted Tree) by NCBI Blast Tree Method**  
 Gambar hasil terdapat pada sub-folder *Phylogenetic Tree*. Please refer to the images in the result folder.
  6. **Catatan**
    - a. Hasil yang dilaporkan hanya berkaitan dengan item yang diuji dan item yang diterima.
    - b. Laporan pengujian ini tidak boleh diperbanyak kecuali secara lengkap tanpa persetujuan dari laboratorium.

Rukan Great Wall Blok C 19-21, Green Lake City, Kel. Petir,  
 Kec. Cipondoh, Kota Tangerang, Banten, 15147, Indonesia.  
 T. 021 5433 2034, 021 5433 2425, 021 5433 2701 | F. 021 5433 2701 |  
[info@ptgenetika.com](mailto:info@ptgenetika.com) | [www.ptgenetika.com](http://www.ptgenetika.com)


B/7.8.0/FM/099

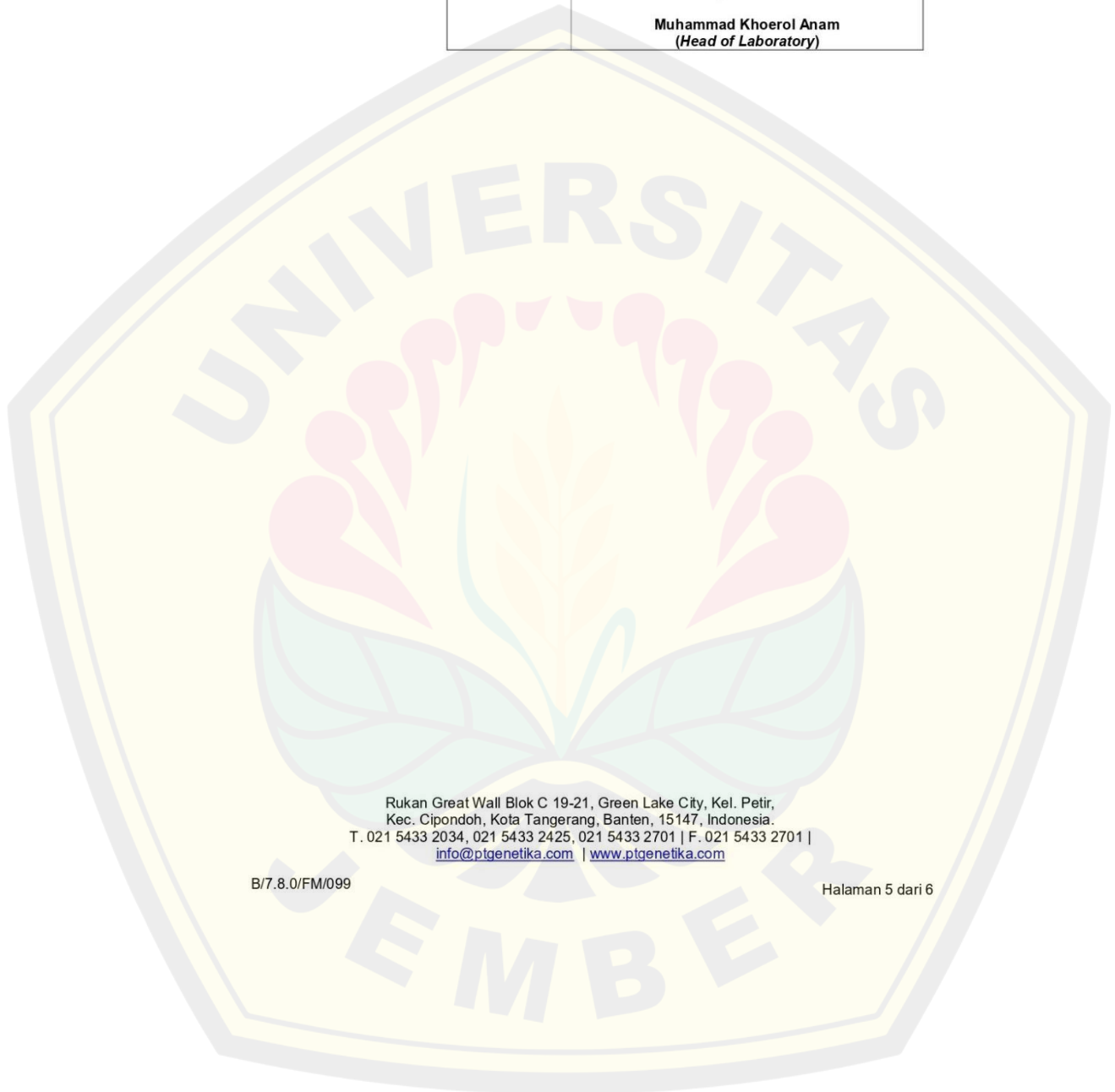
Halaman 4 dari 6



LABORATORIUM PENGUJIAN

PT. GENETIKA SCIENCE INDONESIA

Authorized by:	 Muhammad Khoerol Anam (Head of Laboratory)
----------------	---



Rukan Great Wall Blok C 19-21, Green Lake City, Kel. Petir,  
Kec. Cipondoh, Kota Tangerang, Banten, 15147, Indonesia.  
T. 021 5433 2034, 021 5433 2425, 021 5433 2701 | F. 021 5433 2701 |  
[info@ptgenetika.com](mailto:info@ptgenetika.com) | [www.ptgenetika.com](http://www.ptgenetika.com)

B/7.8.0/FM/099

Halaman 5 dari 6



LABORATORIUM PENGUJIAN

PT. GENETIKA SCIENCE INDONESIA

**Referensi (References):**

Stackebrandt, E., Goebel, B.M., 1994. Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 44, 846–849. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-4-846>

- AKHIR LAPORAN HASIL PENGUJIAN (END OF REPORT) -

Rukan Great Wall Blok C 19-21, Green Lake City, Kel. Petir,  
Kec. Cipondoh, Kota Tangerang, Banten, 15147, Indonesia.  
T. 021 5433 2034, 021 5433 2425, 021 5433 2701 | F. 021 5433 2701 |  
[info@ptgenetika.com](mailto:info@ptgenetika.com) | [www.ptgenetika.com](http://www.ptgenetika.com)

B/7.8.0/FM/099

Halaman 6 dari 6

## Lampiran 4.2. Hasil Optimasi Bioselulosa

<b>R1</b>		<b>Konsentrasi</b>		
<b>Lama produksi</b>	5% (2,5 mL inokulum, 50 mL lar)	10% (5 mL inokulum 50 mL lar)	15% (7,5 mL inokulum 50 mL lar)	
5 hari	T = 0,185 cm D = 7,340 cm m = 5,191g	T = 0,210cm D = 7,405cm m = 7,931g	T = 0,210cm D = 7,660cm m = 8,332g	
10 hari	T = 0,190cm D = 7,440cm m = 6,425g	T = 0,250cm D = 7,790cm m = 9,076g	T = 0,325cm D = 8,325cm m = 11,357g	
15 hari	T = 0,240cm D = 7,960cm m = 8,133g	T = 0,275cm D = 7,865cm m = 9,012g	T = 0,280cm D = 7,980cm m = 9,528g	
<b>R2</b>		<b>Konsentrasi</b>		
<b>Lama produksi</b>	5% (2,5 mL inokulum, 50 mL lar)	10% (5 mL inokulum 50 mL lar)	15% (7,5 mL inokulum 50 mL lar)	
5 hari	T = 0,180cm D = 7,400cm m = 5,200g	T = 0,220cm D = 7,450cm m = 8,001g	T = 0,190cm D = 7,430cm m = 8,120g	
10 hari	T = 0,200cm D = 7,600cm m = 6,570g	T = 0,270cm D = 7,740cm m = 9,300g	T = 0,330cm D = 8,315cm m = 11,470g	
15 hari	T = 0,210cm D = 7,900cm m = 8,200g	T = 0,250cm D = 7,500cm m = 9,190g	T = 0,280cm D = 7,950cm m = 9,532g	
Ket*				
T= tebal; D= diameter; m= <i>massa</i>				

## Lampiran 4.3. Hasil Analisis Statistik Optimasi Bioselulosa

• Uji *Two-Way ANOVA*

## Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Massa bioselulosa (g)

Lama Produksi (hari)	Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
5	Corrected Model	11,285 <sup>a</sup>	2	5,642	678,105	<,001	,998
	Intercept	304,950	1	304,950	36648,986	<,001	1,000
	LamaProduksi	,000	0	.	.	.	,000
	Konsentrasi	11,285	2	5,642	678,105	<,001	,998
	LamaProduksi * Konsentrasi	,000	0	.	.	.	,000
	Error	,025	3	,008			
	Total	316,260	6				
	Corrected Total	11,310	5				
10	Corrected Model	24,239 <sup>b</sup>	2	12,120	865,993	<,001	,998
	Intercept	489,571	1	489,571	34981,817	<,001	1,000
	LamaProduksi	,000	0	.	.	.	,000
	Konsentrasi	24,239	2	12,120	865,993	<,001	,998
	LamaProduksi * Konsentrasi	,000	0	.	.	.	,000
	Error	,042	3	,014			
	Total	513,852	6				
	Corrected Total	24,281	5				
15	Corrected Model	1,944 <sup>c</sup>	2	,972	161,180	<,001	,991
	Intercept	478,737	1	478,737	79372,849	<,001	1,000
	LamaProduksi	,000	0	.	.	.	,000
	Konsentrasi	1,944	2	,972	161,180	<,001	,991
	LamaProduksi * Konsentrasi	,000	0	.	.	.	,000
	Error	,018	3	,006			
	Total	480,700	6				
	Corrected Total	1,962	5				

- **Uji Post Hoc (Turkey HSD)**

g. Konsentrasi inokulum (isolat Als1) (%)

**Multiple Comparisons**

Dependent Variable: Massa bioselulosa (g)

Tukey HSD

Lama Produksi (hari)	(I) Konsentrasi inokulum (%)	(J) Konsentrasi inokulum (%)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95%	95%
						Confidence Interval Lower Bound	Confidence Interval Upper Bound
5	5	10	-2,77050*	,091219	<,001	-3,15168	-2,38932
		15	-3,03050*	,091219	<,001	-3,41168	-2,64932
	10	5	2,77050*	,091219	<,001	2,38932	3,15168
		15	-,26000	,091219	,127	-,64118	,12118
	15	5	3,03050*	,091219	<,001	2,64932	3,41168
		10	,26000	,091219	,127	-,12118	,64118
10	5	10	-2,69050*	,118300	<,001	-3,18484	-2,19616
		15	-4,91600*	,118300	<,001	-5,41034	-4,42166
	10	5	2,69050*	,118300	<,001	2,19616	3,18484
		15	-2,22550*	,118300	<,001	-2,71984	-1,73116
	15	5	4,91600*	,118300	<,001	4,42166	5,41034
		10	2,22550*	,118300	<,001	1,73116	2,71984
15	5	10	-,93450*	,077663	,003	-1,25903	-,60997
		15	-1,36350*	,077663	<,001	-1,68803	-1,03897
	10	5	,93450*	,077663	,003	,60997	1,25903
		15	-,42900*	,077663	,024	-,75353	-,10447
	15	5	1,36350*	,077663	<,001	1,03897	1,68803
		10	,42900*	,077663	,024	,10447	,75353

Lampiran 4.4. Hasil Determinasi pH

Tahapan	Detail Tahapan	Nilai pH
Produksi	Inokulum	3,90
bioselulosa	Pembelian air kelapa (H+0)	5,50
	Air kelapa didiamkan (H+1)	4,60
	Air kelapa didiamkan (H+2)	3,80
	Air kelapa setelah dipanaskan	3,70
	Air kelapa setelah ditambahkan bahan lainnya (menjadi media)	3,60
	Bioselulosa setelah disimpan 5 hari	4,07 (rata-rata)
	Bioselulosa setelah disimpan 10 hari	3,75 (rata-rata)
	Bioselulosa setelah disimpan 15 hari	3,93 (rata-rata)

Lama produksi	R1			R1			Rata-rata	SD
	Volume inokulum			Volume inokulum				
	5%	10%	15%	5%	10%	15%		
5 hari	4,20	4,10	4,00	4,10	4,00	4,00	4,067	0,082
10 hari	3,80	3,70	3,70	3,80	3,80	3,70	3,750	0,055
15 hari	4,00	3,90	3,90	4,00	3,90	3,90	3,933	0,052

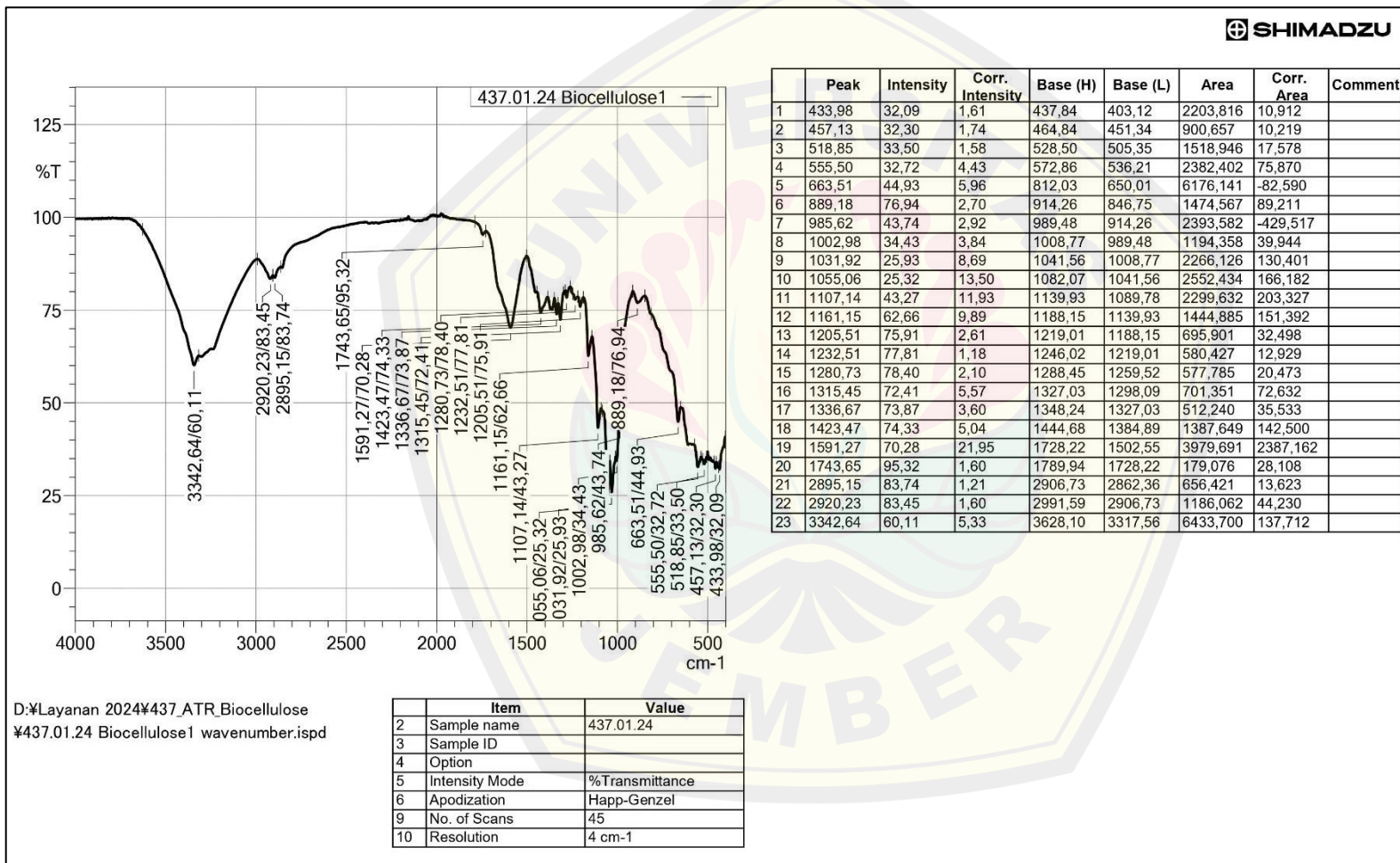
Lampiran 4.5. Hasil Determinasi *Swelling Index* Bioselulosa

Waktu (jam)	r1	r2	r3	%swell r1	%swell r2	%swell r3
0	0,080	0,040	0,060			
1	0,330	0,230	0,260	312,500	475,000	333,333
2	0,400	0,330	0,380	400,000	725,000	533,333
3	0,430	0,370	0,440	437,500	825,000	633,333
4	0,500	0,410	0,480	525,000	925,000	700,000
5	0,570	0,420	0,560	612,500	950,000	833,333
7	0,610	0,450	0,600	7,017	7,143	7,143
9	0,670	0,490	0,650	737,500	1125,000	983,333
11	0,690	0,550	0,670	762,500	1275,000	1016,670
13	0,740	0,570	0,700	825,00	1325,000	1066,670
15	0,800	0,580	0,740	900,00	1350,000	1133,330
18	0,830	0,620	0,810	937,500	1450,000	1250,000
21	0,860	0,650	0,830	975,000	1525,000	1283,330
24	0,880	0,670	0,840	1000,000	1575,000	1300,000
Rata-rata per replikasi				648,617	1040,930	851,832
SD				299,474	454,799	394,796

Lampiran 4.6. Hasil Determinasi Kadar Air

Waktu (jam)	r1	r2	r3	%moist r1	%moist r2	%moist r3
0	8,940	8,890	8,780	10,507	11,125	8,933
15	8,620	8,710	8,680	6,551	8,875	7,692
30	8,610	8,480	8,600	6,428	6,000	6,699
45	8,570	8,460	8,580	5,933	5,750	6,452
60	8,550	8,450	8,480	5,686	5,625	5,211
75	8,090	8,000	8,060			
90	8,090	8,000	8,060			
Rata-rata per replikasi				7,021	7,475	6,997
SD				1,980	2,442	1,397

Lampiran 4.7. Hasil Analisis FTIR



Lampiran 4.8. Dokumentasi Prosedur Penelitian

