

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI  
PENGHASIL SELULOSA DARI BUAH PEPAYA**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF  
CELLULOSE PRODUCING BACTERIA FROM PAPAYA**

**MUHAMMAD ZACKY RAHUL AL FASYAH  
N011191019**



**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI  
BUAH PEPAYA**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CELLULOSE PRODUCING  
BACTERIA FROM PAPAYA**

**SKRIPSI**

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi  
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

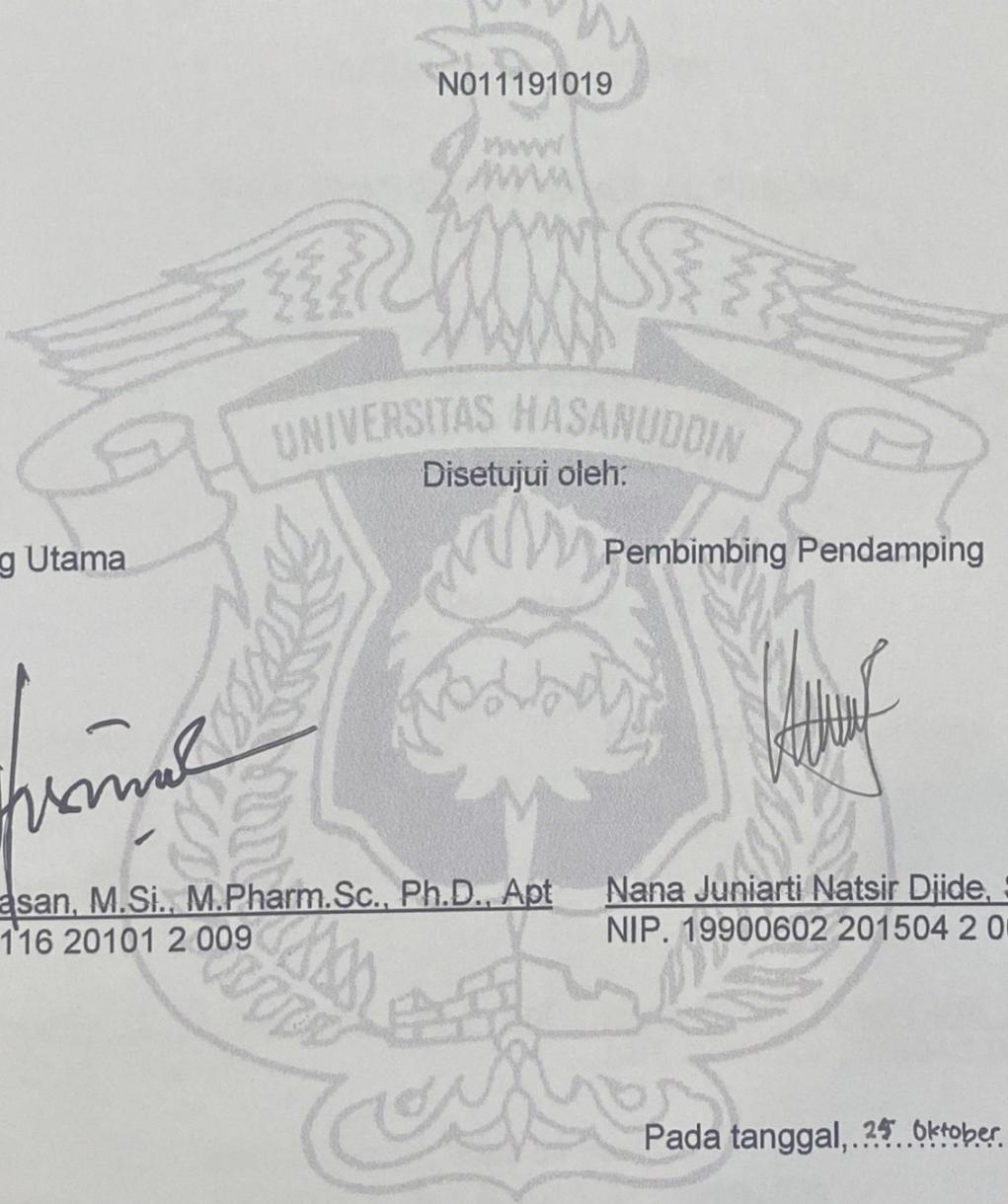
**MUHAMMAD ZACKY RAHUL AL FASYAH  
N011191019**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2023**

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI BUAH  
PEPAYA

MUHAMMAD ZACKY RAHUL AL FASYAH

N011191019



Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Pembimbing Pendamping

Nurhasni Hasan, M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt  
NIP. 19860116 20101 2 009

Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19900602 201504 2 002

Pada tanggal, 25 Oktober, 2023

**SKRIPSI**  
**ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENGHASIL SELULOSA DARI**  
**BUAH PEPAYA**

**ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF CELLULOSE PRODUCING**  
**BACTERIA FROM PAPAYA**

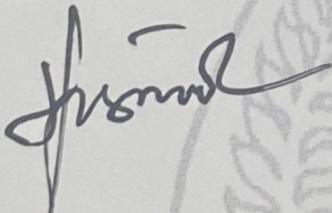
Disusun dan diajukan oleh :

**MUHAMMAD ZACKY RAHUL AL FASYAH**  
**N011191019**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 09 Oktober 2023  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

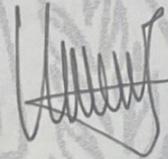
Menyetujui,

Pembimbing Utama



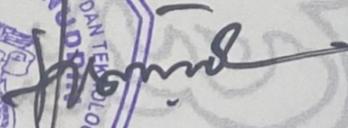
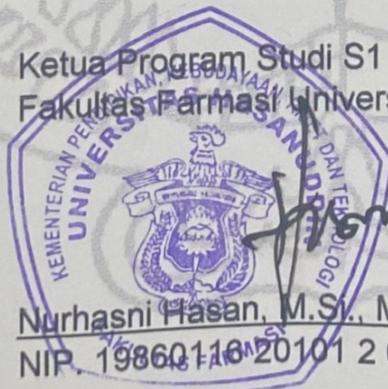
Nurhasni Hasan, M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt  
NIP. 19860116 20101 2 009

Pembimbing Pendamping



Nana Juniarti Natsir Diide, S.Si., M.Si., Apt.  
NIP. 19900602 201504 2 002

Ketua Program Studi S1 Farmasi,  
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin



Nurhasni Hasan, M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt.  
NIP. 19860116 20101 2 009

## PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

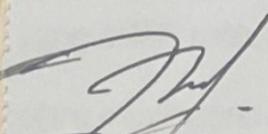
Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini benar-benar adalah hasil karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh batal demi hukum.

Makassar, 24 Oktober 2023



Yang menyatakan

  
Muhammad Zacky Rahul Al Fasyah  
N011191019

## UCAPAN TERIMA KASIH

Bismillahirrahmanirrahim, segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah Subhanahu wa ta'ala atas berkat, rahmat, dan kehidupan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Tidak ada persembahan terbaik yang dapat penulis berikan selain ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyelesaian skripsi ini. Maka pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih, yaitu kepada:

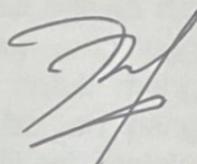
1. Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., M.Pharm.Sc., Ph.D., Apt. selaku pembimbing utama dan Ibu Nana Juniarti Natsir Djide, S.Si., M.Si., Apt. selaku pembimbing pendamping yang dengan ikhlas dan sabar telah meluangkan waktu, tenaga, ilmu, serta arahan dalam penelitian hingga penyusunan skripsi ini.
2. Ibu Prof. Dr. Sartini, M.Si., Apt. dan Bapak Abdul Rahim, S.Si., M.Si., Ph.D., Apt. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu dan memberikan saran membangun dalam penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. selaku dosen pembimbing akademik penulis atas segala ilmu dan arahan selama penulis menempuh studi.
4. Dekan dan Wakil Dekan, serta seluruh staf dosen dan pegawai Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan kontribusi dalam pengembangan serta peningkatan mutu dan kualitas

serta fasilitas yang diberikan sehingga bisa digunakan dalam penelitian ini.

5. Orang tua penulis tercinta Alm. Asma Malewa serta saudari penulis tersayang Asnie Rema Ochady dan Aira Maghfira Ramadhany yang selalu memberi dukungan dalam segala aspek sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan ini.
6. Nenek dan kakek penulis, Romlah Perkins dan Edwin Perkins Jr. yang selalu memberi dukungan dan doa untuk penulis. Begitu pula seluruh keluarga dan kerabat yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu.
7. Laboran lab Mikrobiologi Farmasi, Kak Lia yang selalu memberi dukungan baik itu saran, nasehat, dan semangat kepada penulis selama 3 tahun ini.
8. Teman-teman korps Asisten Mikrobiologi Farmasi khususnya “Micro Dexi”, Vyna, Susan, Pumah, Khairah, Ila,, Topher, Yusril, Ica, Nadiyyah, Ventur, dan Aina yang menjadi teman seperjuangan serta tempat berbagi keluh kesah selama proses perkuliahan.
9. Teman-teman satu bimbingan khususnya Jordy, Pumah, Khairah, dan Shabrina yang saling membantu dan menyemangati selama penelitian.
10. Teman-teman angkatan 2019 (DEX19EN) yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu, kalian terhebat seperti singa.

Penulis menyadari skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun dari berbagai pihak. Semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan dan dipergunakan sebaik baiknya.

Makassar, 24 Oktober 2023



Muhammad Zacky Rahul Al Fasyah

## ABSTRAK

**MUHAMMAD ZACKY RAHUL AL FASYAH.** *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Selulosa dari Buah Pepaya* (dibimbing oleh Nurhasni Hasan dan Nana Juniarti Natsir Djide).

Selulosa Bakteri (SB) adalah material biopolimer yang diproduksi oleh berbagai strain bakteri dan dapat menjadi alternatif menjanjikan dibanding Selulosa Tanaman karena memiliki karakteristik yang lebih unggul. Salah satu sumber bakteri penghasil selulosa adalah buah busuk dan berdasarkan penelitian sebelumnya telah diketahui bahwa isolat bakteri dari buah pepaya menunjukkan produksi selulosa bakteri yang tinggi dibandingkan buah busuk lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penghasil selulosa dari buah pepaya. Isolasi bakteri penghasil selulosa dilakukan dengan metode sebar, dan diidentifikasi melalui pengamatan makroskopik, uji produksi asam asetat, uji oksidasi etanol, pewarnaan gram, uji motilitas, uji hidrolisis amilum, uji fermentasi karbohidrat, dan uji katalase. Hasil menunjukkan terdapat dua isolat yang mampu memproduksi SB, yaitu isolat KB-1 dan KB-2 dengan karakteristik serupa yaitu berbentuk *coccus*, gram negatif, memiliki kista bakteri, tidak memproduksi asam asetat, tidak mengoksidasi etanol, non-motil, tidak menghidrolisis amilum, tidak memfermentasi karbohidrat tertentu, dan katalase positif. Selulosa Bakteri dari isolat KB-1 dan KB-2 menunjukkan karakteristik yang sama yaitu berwarna putih, *translucent*, berbau khas, dan bertekstur kenyal dengan *yield* masing masing sebesar 0,0138 g/L dan 0,0132 g/L. Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa terdapat 2 isolat dari buah pepaya yang dapat memproduksi SB dan diduga termasuk ke dalam golongan bakteri *Azotobacter beijerinckii*

Kata kunci : Selulosa bakteri, buah pepaya, isolat KB-1, isolat KB-2, *Azotobacter beijerinckii*

## ABSTRACT

**MUHAMMAD ZACKY RAHUL AL FASYAH.** Isolation and Characterization of Cellulose-Producing Bacteria from Papaya Fruit (supervised by Nurhasni Hasan and Nana Juniarti Natsir Djide).

Bacterial Cellulose (BC) is a biopolymer substance produced by several strains of bacteria that has the potential to be a viable alternative to Plant Cellulose due to its superior properties. Rotten fruit is one source of cellulose-producing bacteria, and earlier research has shown that bacterial isolates from papaya fruit had higher BC production than other fruits. This study aimed to isolate cellulose-producing bacteria from papaya fruit. Isolation of cellulose-producing bacteria was carried out using the scatter method and identified through macroscopic observation, an acetic acid production test, an ethanol oxidation test, gram staining, a motility test, a starch hydrolysis test, a carbohydrate fermentation test, and a catalase test. The results showed that there were two isolates capable of producing BC, namely isolates KB-1 and KB-2, with similar characteristics, namely being coccus-shaped, gram-negative, having bacterial cysts, not producing acetic acid, not oxidizing ethanol, being non-motile, not hydrolyzing starch, not fermenting certain carbohydrates, and being catalase positive. Bacterial cellulose from isolates KB-1 and KB-2 had the same properties, including being white, translucent, having a distinct odor, and having a rubbery feel, with yields of 0.0138 g/L and 0.0132 g/L, respectively. Based on the findings, it can be concluded that two isolates from papaya fruit can produce BC and are thought to belong to the *Azotobacter* bacterial group.

**Keywords:** Bacterial cellulose, papaya fruit, isolate KB-1, isolate KB-2, *Azotobacter beijerinckii*

## DAFTAR ISI

	halaman
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I	1
PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan masalah	3
I.3 Tujuan penelitian	3
BAB II	4
TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Pepaya ( <i>Carica papaya</i> )	4
II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan	4
II.1.2 Morfologi Tumbuhan	4
II.1.3 Kandungan Kimia Tumbuhan	5
II.2 Isolasi Bakteri	5
II.3 Fase Pertumbuhan Bakteri	7
II.4 Identifikasi Bakteri	8

II.5. Selulosa Bakteri	9
II.5.1 Karakteristik Selulosa Bakteri	10
II.5.2 Biosintesis Selulosa Bakteri	10
II.5.3 Metode Kultivasi Selulosa Bakteri	11
II.5.4 Faktor Pertumbuhan Selulosa Bakteri	12
II.5.5 Aplikasi Selulosa Bakteri	14
BAB III	16
METODE KERJA	16
III.1 Alat dan Bahan	16
III.2 Metode Kerja	16
III.2.1 Sterilisasi Alat	16
III.2.2 Pengambilan dan Pengolahan Sampel	17
III.2.3 Pembuatan Medium	17
III.2.4 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Penghasil Selulosa Bakteri	19
III.2.5 Skrining Bakteri Penghasil Selulosa Bakteri	19
III.2.6 Pembuatan Starter	19
III.2.7 Produksi Selulosa Bakteri	19
III.2.8 Purifikasi Selulosa Bakteri	19
III.2.9 Evaluasi Produksi Selulosa Bakteri	20
III.2.10 Identifikasi Bakteri Penghasil Selulosa Bakteri	20
III.3 Analisis data	22
BAB IV	23
HASIL DAN PEMBAHASAN	23

IV.1 Isolasi dan Pemurnian Bakteri Penghasil Selulosa	23
IV.3 Produksi dan Purifikasi Selulosa Bakteri	25
IV.4 Identifikasi Bakteri	27
BAB V	34
KESIMPULAN DAN SARAN	34
V.1 Kesimpulan	34
V.2 Saran	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN	39
Lampiran 1. Skema kerja umum	39
Lampiran 2. Gambar Hasil Uji Penelitian	40
Lampiran 3. Dokumentasi	42

## DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Morfologi isolat bakteri dari buah pepaya pada <i>Carr Agar</i>	24
2. Hasil produksi selulosa bakteri	25
3. Karakteristik isolat bakteri dari buah pepaya	28
4. Karakteristik spesies dari golongan <i>Azotobacter</i> dan <i>Azomonas</i>	30

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. <i>Carica papaya</i>	4
2. Kurva pertumbuhan bakteri	7
3. Ikatan antar dan intra hidrogen pada SB	9
4. Skema biosintesis SB	11
5. Hasil isolasi bakteri	24
6. Hasil inokulasi	24
7. Produksi dan Purifikasi SB dari isolat KB-1 dan KB-2	26
8. Kista bakteri	32
9. Pewarnaan Gram	40
10. Hasil uji motilitas	40
11. Hasil uji hidrolisis amilum	40
12. Hasil uji fermentasi karbohidrat	41
13. Hasil uji katalase	41
14. Hasil uji produksi asam asetat	41
15. Hasil uji oksidasi etanol	41
16. Proses isolasi	42
17. Proses inokulasi	42
18. Proses pembuatan starter	43
19. Proses identifikasi isolat bakteri	43
20. Produksi SB	44



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	39
2. Gambar Hasil Uji Penelitian	40
3. Dokumentasi	42

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Selulosa merupakan salah satu polimer yang paling umum digunakan dan dapat diperoleh dari tumbuhan, mikroorganisme, hewan, algae, sintesis kimia serta sintesis enzimatik. Selulosa Bakteri (SB) adalah material biopolimer yang diproduksi oleh berbagai strain bakteri dalam media sintesis dan non sintesis melalui fermentasi oksidatif (Esa *et al.*, 2014). Senyawa ini dapat menjadi alternatif menjanjikan dibanding Selulosa Tanaman (ST) karena memiliki banyak kelebihan seperti: dapat diproduksi hanya dalam beberapa hari fermentasi (Kamal *et al.*, 2022), bersifat lebih murni karena tidak memiliki lignin dan hemiselulosa yang memerlukan proses mekanik, kimia, dan enzimatik untuk menghilangkan senyawa tersebut, serta memiliki ketebalan serat berkisar sebesar 0,1  $\mu\text{m}$  - 10  $\mu\text{m}$  yang seratus kali lebih tipis dibandingkan serat ST (Zahan & Shaiful, 2017). Dengan demikian, penggunaan SB sebagai bahan utama untuk produk berbasis selulosa akan lebih ramah lingkungan dan dapat berkelanjutan (Muhamad *et al.*, 2017).

Struktur dan karakteristik fisikokimia yang dimiliki SB memiliki banyak keuntungan seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas, derajat kristanilitas dan porositas yang tinggi, retensi air yang baik, kekuatan tarik yang tinggi, sifatnya yang non toksik, dan struktur yang hampir serupa dengan ST (Akintunde *et al.*, 2022). Berdasarkan karakteristik tersebut SB banyak

dimanfaatkan secara langsung sebagai pembalut luka, pelepasan obat terkontrol, pelembab wajah dan masker *anti-aging*. Lalu, SB dapat pula digunakan sebagai bahan tambahan pangan, produk farmasetik maupun kemasan produk (Weyell *et al.*, 2019).

Genus bakteri yang dapat mensintesis selulosa yaitu genus bakteri Gram-negatif seperti: *Aerobacter*, *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Gluconobacter*, *Rhizobium*, dan *Sarcina*. Dari genus tersebut, *Acetobacter* dan *Gluconobacter* menjadi salah satu genus yang paling optimum dalam kultur SB (Yanti *et al.*, 2017). Bakteri ini umum ditemukan pada limbah industri agroteknologi, bunga, tanah, pembuangan air, limbah cuka, limbah sayur, dan limbah buah-buahan (Singh *et al.*, 2017).

Salah satu buah yang dapat dijadikan sumber isolat yang ekonomis dan tersedia sepanjang tahun adalah Pepaya (*Carica papaya* L.). Pepaya mengandung natrium, kalium, magnesium, kalsium, zat besi, dan vitamin lainnya yang mendorong pertumbuhan bakteri (Zahan & Shaiful, 2017). Menurut Suwanposri *et al.* (2013), yang melaporkan bahwa isolat bakteri yang diisolasi dari buah pepaya menunjukkan produksi selulosa bakteri yang paling tinggi dibandingkan buah-buahan lain. Namun belum ada penelitian lanjutan yang menunjukkan spesies dari isolat tersebut.

Berdasarkan uraian di atas, maka telah dilakukan isolasi dan karakterisasi bakteri penghasil selulosa dari buah pepaya untuk mengetahui jenis bakteri yang mampu menghasilkan SB.

## **I.2 Rumusan masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka rumusan masalah yang timbul dari penelitian ini adalah:

1. Apakah isolat bakteri dari buah pepaya mampu memproduksi SB?
2. Bagaimana karakteristik isolat bakteri dari buah pepaya yang memproduksi SB
3. Bagaimana karakteristik SB yang dihasilkan oleh isolat bakteri dari buah pepaya?

## **I.3 Tujuan penelitian**

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui isolat bakteri dari buah pepaya yang mampu memproduksi SB.
2. Untuk mengetahui karakteristik isolat bakteri dari buah pepaya yang memproduksi SB.
3. Untuk mengetahui karakteristik SB yang dihasilkan oleh isolat bakteri dari buah pepaya.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### II.1 Pepaya (*Carica papaya*)

##### II.1.1 Klasifikasi tumbuhan (Wadekar *et al.* 2021)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Bangsa	: Brassicales
Suku	: Cariceae
Marga	: <i>Carica</i>
Jenis	: <i>Carica papaya</i> Linn.



**Gambar 1.** *Carica papaya* (Vij & Prashar, 2015)

##### II.1.2 Morfologi tumbuhan

Tanaman pepaya memiliki tinggi rata rata sekitar 5 – 10 m. Daunnya tersusun secara spiral hingga ke batang bagian atas dengan bentuk besar menjari dan diameter sekitar 20 -28 inci. Semua bagian tanaman mengandung getah putih. Tangkai daun berbentuk bulat dan berwarna kuning kehijauan dengan noda ungu atau ungu sporadis, panjang tangkai berkisar 25 – 100 cm

dan tebal 0,5 – 1,5 cm. Umur setiap daun adalah 4 hingga 6 bulan. Bunga pepaya berwarna putih pucat dengan kelopak berjumlah 5 dan bersifat sangat dimorfik. Buahnya berbentuk lonjong hingga hampir bulat dengan panjang 15 – 50 cm dan tebal 10 – 20 cm; beratnya mencapai 9 kg. Buah pepaya memiliki lilin dan tipis namun cukup keras. Jika buah masih berwarna hijau, buah buah keras dan kaya akan getah namun saat matang warnanya menjadi lebih terang atau kuning tua hingga oranye (Wadekar *et al.*, 2021)

### **II.1.3 Kandungan kimia tumbuhan**

Tanaman pepaya mengandung mikro dan makro mineral seperti Na, K, Ca, Mg, P, Fe, CU, Zn, dan Mn. Selain itu, pepaya juga kaya akan karbohidrat, karotenoid, thiamin, riboflavin, niacin, vitamin C, vitamin B6, dan vitamin K (Martial-Didier, 2017). Diantara karbohidrat lainnya, gula merupakan penyusun utama dengan total jumlah 48,3% sukrosa, 29,8% glukosa, dan 2% fruktosa (Zahan & Shaiful, 2017). Glukosa menjadi sumber karbon paling ideal untuk kultur SB karena jika dibandingkan dengan sukrosa yang merupakan disakarida memerlukan waktu lebih untuk terhidrolisis sebelum digunakan dalam sintesis selulosa. Selain itu, menurut (Molina-Ramirez, 2017), kultur glukosa menunjukkan hasil paling tinggi dibandingkan kultur sukrosa dan fruktosa.

## **II.2 Isolasi bakteri**

Isolasi bakteri adalah suatu proses pengambilan bakteri dari medium atau lingkungan asalnya seperti tanah, air, makanan, maupun tubuh hewan atau

tumbuhan lalu menumbuhkannya di medium buatan sehingga diperoleh biakan murni. Prinsip dari isolasi bakteri adalah memisahkan satu jenis bakteri dengan bakteri lain yang dapat dilakukan dengan menumbuhkannya di media padat sehingga sel sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap pada tempatnya (Singleton & Sainsbury, 2006). Adapun metode yang dapat digunakan untuk melakukan isolasi bakteri yaitu

a. Metode tuang

Metode ini dilakukan dengan menuang sampel sebanyak 1 mL ke dalam cawan petri lalu ditambahkan media sebanyak 15 – 20 mL dan dihomogenkan kemudian diinkubasi. Metode tuang bertujuan untuk menumbuhkan bakteri di permukaan dan di dalam agar, bakteri yang tumbuh di permukaan agar cenderung memerlukan  $O_2$  yang banyak sedangkan bakteri yang tumbuh di dalam agar cenderung memerlukan kadar  $O_2$  yang sedikit untuk pertumbuhannya.

b. Metode sebar

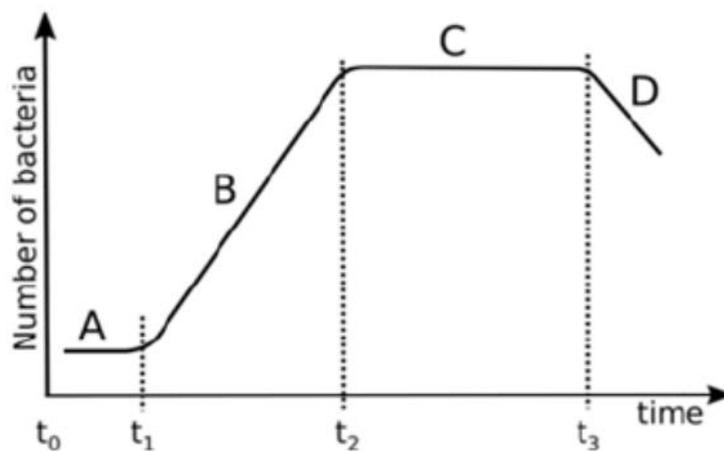
Metode ini dilakukan dengan mencuplik sampel sebanyak 0,05 – 0,1 mL ke atas permukaan media yang memadat dan disebar dengan *spreader* atau *swab* steril setelah itu cawan petri dikeringkan dan diinkubasi. Umumnya metode ini dilakukan untuk menghitung jumlah koloni bakteri.

c. Metode gores

Metode gores dilakukan dengan menggoreskan suspensi sampel pada permukaan medium agar lalu diinkubasi dan akan tumbuh koloni koloni terpisah pada bekas goresan sehingga dapat dikultur lebih lanjut.

### II.3 Fase pertumbuhan bakteri

Pertumbuhan merupakan penambahan jumlah atau volume serta ukuran sel. Pertumbuhan sel bakteri mengikuti suatu pola berupa kurva pertumbuhan sigmoid (Gambar 2).



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri (Alvez, 2016)

Adapun fase fase pertumbuhan yaitu:

a. Fase adaptasi

Fase penyesuaian diri mikroorganisme dengan lingkungan baru. Pada fase ini sel mulai terjadi pembesaran namun sel belum terbelah, enzim dan zat zat esensial untuk pertumbuhan juga mulai terbentuk.

b. Fase pertumbuhan dipercepat

Fase ini disebut juga dengan fase lag. Pada fase ini, enzim induktif mulai dibentuk dan kecepatan pertumbuhan semakin tinggi

c. Fase logaritma

Fase logaritma adalah fase dengan kecepatan berkembang biak yang tinggi dan konstan karena proses metabolisme mengalami peningkatan. Jika populasi dari fase ini diinokulasikan ke medium baru yang sama maka populasi selnya akan langsung berada di fase logaritma tanpa melalui fase adaptasi.

d. Fase pertumbuhan terhambat

Fase dimana terjadinya penurunan kecepatan pertumbuhan dikarenakan bertambahnya sel sel mati akibat keracunan metabolit. Namun, jumlah sel yang mati masih lebih sedikit jika dibandingkan dengan sel hidup.

e. Fase stasioner

Pada fase ini terjadi penurunan ukuran sel akibat kekurangan nutrisi sehingga jumlah sel hidup dan sel mati seimbang. Selain itu, pada fase ini sel menjadi lebih tahan terhadap keadaan ekstrim.

f. Fase kematian dipercepat

Fase dimana terjadinya peningkatan jumlah sel mati dan penurunan jumlah sel baru.

g. Fase kematian

Pada fase ini terjadi peningkatan kematian sel akibat tidak terjadinya perkembangbiakan sel yang baru (Djide, M.N., 2008).

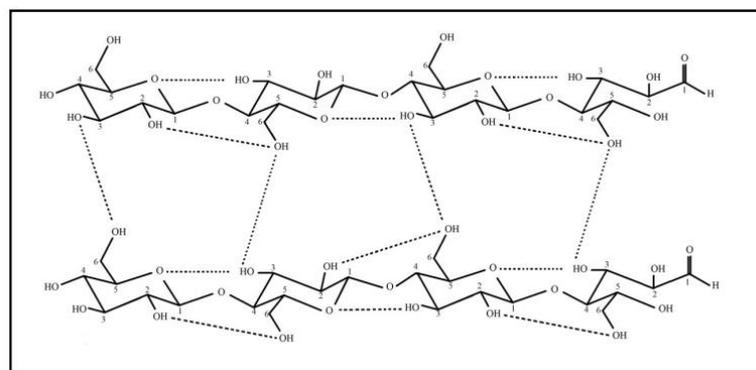
#### **II.4 Identifikasi bakteri**

Identifikasi bakteri dilakukan untuk mengetahui sifat sifat dari suatu bakteri dengan mengamati hasil dari serangkaian uji. Identifikasi dapat dilakukan

dengan cara konvensional dan molekuler (Prayoga & Wardani, 2015). Metode konvensional dilakukan dengan cara mengamati bentuk, warna, hingga struktur bakteri lalu dilakukan pewarnaan Gram untuk membedakan bakteri Gram negatif dan Gram positif. Selain itu, diamati pula fisiologi dari bakteri tersebut dengan cara pengujian aktivitas biokimia seperti uji fermentasi karbohidrat, katalase, uji IMViC, dan lain lain (Cappucino & Sherman, 2014).

## II.5. Selulosa bakteri

Selulosa bakteri memiliki struktur kimia yang mirip dengan selulosa tumbuhan namun tidak mengandung lignin, pektin, dan hemiselulosa. Struktur dasar SB terdiri dari rantai  $\beta$ -1 $\rightarrow$ 4 glukosa yang disatukan oleh ikatan antar dan intra hidrogen dengan rumus molekul  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Selama proses sintesis, rantai protofibril glukosa disekresikan melalui dinding sel bakteri membentuk pita selulosa nanofibril. Selulosa yang terbentuk memiliki gugus hidroksil yang melimpah yang mempengaruhi karakteristik SB seperti hidrofilisitas, biodegradabilitas, dan porositas (Esa *et al.*, 2014).



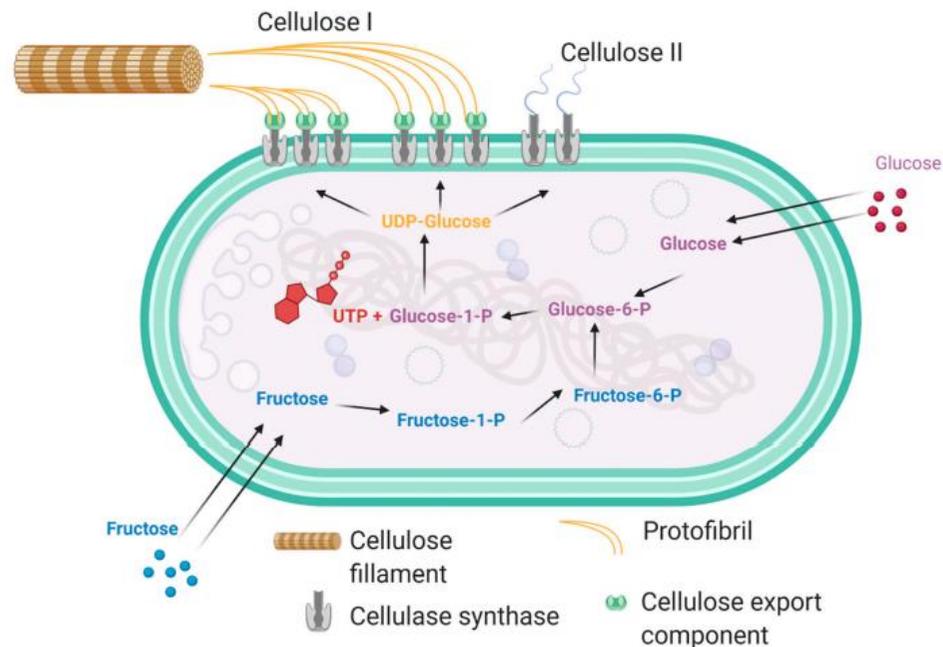
**Gambar 3.** Ikatan antar dan intra hidrogen pada SB (Esa *et al.*, 2014)

### **II.5.1 Karakteristik SB**

Karakteristik SB jika dibandingkan dengan ST memiliki banyak perbedaan seperti derajat kristalinitas tinggi, derajat polimerisasi tinggi, dan kekuatan tarik yang lebih tinggi. Selain itu, SB memiliki diameter fibril yang lebih kecil sehingga bersifat lebih hidrofilik dengan panjang fibril kurang dari 100 nm dan lebar 2-4 nm. Selain itu, SB memiliki elastisitas modulus sebesar 78 GPa (Wibowo, 2015). Berdasarkan Rebelo *et al.*, (2018), SB memiliki kandungan air hingga 98% yang disebabkan kemampuannya dalam mengabsorpsi air dengan sangat baik.

### **II.5.2 Biosintesis SB**

Biosintesis SB dimulai dengan bakteri menyerap glukosa dari lingkungan lalu diisomerisasi menjadi glukosa-1-fosfat oleh glukosa-6-fosfat. Isomer ini kemudian bereaksi dengan uridin-5-trifosfat (UTP) membentuk glukosa uridin fosfat (UDP). UDP-glukosa ini kemudian dikatalisis oleh selulosa sintase A menjadi rantai 1,4 glukukan yang diaktifkan oleh siklik-di-GMP. Selulosa ini kemudian dikeluarkan melalui dinding sel bakteri. Namun, jika kadar glukosa menurun maka jalur fruktosa akan digunakan memanfaatkan proses enzimatik yang relevan. Skema biosintesis selulosa bakteri dapat dilihat pada gambar 2 (Swingler *et al*, 2021).



**Gambar 4. Skema biosintesis SB** (Swingler *et al.*, 2021)

### II.5.3 Metode kultivasi SB

Kultivasi SB dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu statis, pengadukan, dan agitasi (Ullah *et al.*, 2019).

#### 1) Metode statis

Metode ini merupakan metode yang paling umum digunakan dalam produksi SB dengan cara menginokulasi bakteri penghasil selulosa ke dalam medium optimum lalu diinkubasi selama 5 – 10 hari dan tidak diganggu sama sekali. Pada metode ini, selulosa akan terbentuk di permukaan media membentuk lembaran film. Sebagian besar hasil dari metode ini digunakan untuk aplikasi biomedis bentuknya yang kuat dan cocok untuk diaplikasikan ke berbagai macam sediaan. Kekurangan metode ini adalah hasil yang cukup

rendah dan waktu inkubasi yang lebih lama jika dibandingkan dengan metode lainnya sehingga membatasi skala komersialnya.

## 2) Metode pengadukan

Metode pengadukan dapat dibedakan dengan metode agitasi karena prosesnya yang diinkubasi di dalam *shaker inkubator*, sedangkan metode agitasi menggunakan reaktor yang dapat diatur kecepatannya. Sebelum kultivasi, bakteri penghasil selulosa diinokulasikan ke dalam medium optimum dan diinkubasi pada suhu yang sesuai lalu diatur kecepatannya dengan satuan *revolution per minute (rpm)*. Jenis kultivasi ini umumnya diinkubasi selama 24-36 jam dengan hasil selulosa berupa pelet kecil.

## 3) Metode agitasi

Kultivasi secara agitasi menghasilkan selulosa berbentuk granul karena proses yang lebih cepat. Kepadatan sel dan suplai oksigen yang lebih baik menghasilkan SB dengan produktivitas volumetrik yang sangat tinggi. Meski begitu, metode ini memiliki beberapa kekurangan seperti memerlukan pasokan daya yang tinggi, karakteristik selulosa yang dihasilkan tidak sebaik metode lainnya, tidak bisa langsung digunakan untuk keperluan biomedis, dan dapat mengubah strain bakteri penghasil selulosa menjadi mutant sehingga menurunkan produksi SB yang diinginkan.

### **II.5.4 Faktor pertumbuhan SB**

Pertumbuhan SB dapat dipengaruhi oleh berbagai macam faktor seperti, oksigen terlarut, pH, suhu, kultur media, dan metode kultivasi (Lahiri *et al.*, 2021).

### 1) Oksigen terlarut

Oksigen memegang peran penting dalam mengontrol aerasi di dalam media. Suplai oksigen yang cukup sangat dibutuhkan karena bakteri yang berada dalam medium bersifat aerob. Di dalam medium, kadar oksigen terlarut yang rendah dapat menghambat pertumbuhan bakteri sehingga produksi SB akan terhambat. Jumlah oksigen yang terbatas tidak hanya merusak produksi SB namun juga menurunkan kualitas selulosa bakteri yang dihasilkan.

### 2) pH

pH menjadi salah satu faktor penting fermentasi oksidatif dalam produksi selulosa bakteri. pH asam atau mendekati netral adalah yang paling sesuai untuk produksi selulosa bakteri. Selama proses fermentasi, metabolit sekunder yang dihasilkan seperti asam asetat, asam glukonat, dan asam laktat dapat merubah pH media sehingga pH 4 – 6 menjadi pH yang paling ideal untuk fermentasi selulosa bakteri.

### 3) Suhu

Salah satu parameter yang paling penting dalam kultur SB adalah suhu, yang dimana sangat berpengaruh dalam adaptasi organisme untuk kelangsungan hidupnya dengan mempengaruhi fisiologi homeostasis bakteri. Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan denaturasi terhadap sel bakteri sedangkan suhu yang terlalu rendah menyebabkan lambatnya metabolisme karena suplai energi yang rendah dalam perkembangan sel. Berdasarkan , rentang suhu terbaik untuk produksi SB adalah 25 – 30°C.

#### 4) Kultur medium

Sumber karbon seperti fruktosa, gliserol, maltosa, pati, xylose, dan nitrogen seperti pepton adalah komponen utama yang dibutuhkan dalam fermentasi SB. Vitamin juga memegang peran penting dalam membantu metabolisme sel dan pertumbuhan. Vitamin seperti pyridoxine, asam nikotinat, biotin, dan asam p-aminobenzoat dibutuhkan dalam sintesis sel.

#### **II.5.5 Aplikasi SB**

Selulosa bakteri dapat diaplikasikan secara luas di bidang industri baik dari segi medis hingga ke non medis, seperti membantu penghantaran obat, filtrasi, biosensor, elektronik, dan bahan pangan. Di negara-negara Asia, "Nata de Coco" adalah salah satu bahan pangan dari SB yang umum dikonsumsi. Selain itu, minuman fermentasi seperti Kombucha juga menggunakan SB atau yang sering disebut dengan SCOBY "*Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast*". (Yokouchi *et al.*, 2018). Di bidang medis, SB dapat dimanfaatkan sebagai penghantaran obat. Obat yang umumnya dihantarkan dengan SB adalah jenis obat anti inflamasi seperti ibuprofen dan diklofenak, serta obat-obat antimikroba. Selain menjadi bahan penghantar obat, berkat karakteristik SB seperti kekuatan tarik yang tinggi, elastis, tidak toksik dan tidak menyebabkan inflamasi, SB dapat dimanfaatkan sebagai bahan implan yaitu kornea sintetik yang merupakan salah satu area pengobatan paling sensitif (Swingler *et al.*, 2021).

Selain itu, SB juga dapat dimanfaatkan sebagai pembalut luka antibakteri yang sangat baik karena tingginya tingkat revaskularisasi pada luka,

mengurangi rasa sakit, dan eritema. Dalam bidang kosmetik, SB juga umum karena tekstur dan retensi airnya yang baik, contohnya dapat dikombinasikan dengan pelembab seperti *Aloe vera* atau *Shea butter* dan dapat digunakan sebagai masker wajah atau dapat dikombinasikan dengan asam salisilat dan asam glikolat untuk menghilangkan kutil (Ganesan *et al.*, 2019).