

Exploration of Acid-Tolerant Bacteria for Cellulose Production from Fruit Waste

Auliyya Intan Mellaniy Arifin¹, Kristanti Indah Purwani¹, Endry Nugroho Prasetyo^{1*}

¹Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, Indonesia;

Article History

Received : September 16th, 2025

Revised : October 23th, 2025

Accepted : November 02th, 2025

*Corresponding Author:

Endry Nugroho Prasetyo

Departemen Biologi, Fakultas
Sains dan Analitika Data, Institut
Teknologi Sepuluh Nopember,
Surabaya, Indonesia;

Email: endry@its.ac.id

Abstract: Bacterial cellulose is a natural biomaterial synthesized by certain bacterial species by producing protofibril threads that bind together to form strands of cellulose fibers or membranes. Bacterial cellulose has been widely used in various industrial fields, including biomedical such as wound dressings, the textile industry as a raw material for clothing, and the food industry for the manufacture of nata de coco. To support this industrial application, it is necessary to characterization of bacterial cellulose to increase the efficiency and quality of the production process. Therefore, this study aims to characterize bacterial cellulose produced by acid-fast bacteria isolated from fruit waste. This research involved the isolation, purification and characterization of cellulose producing bacteria. The result showed that acid-tolerant bacteria that were successfully isolated were 23. Purification and screening of bacteria that have the potential to produce cellulose obtained 6 isolates, namely SB 6, SB 13, SB 19, SB 20, SB 21, and SB 23. Macroscopic observation found that all bacteria have a circular colony, entire colony edge, shiny colony surface, convex elevation shape, while the colony color is different, SB 6 is yellowish cream, SB 13, 19, 23 cream, SB 20 orangeish cream, and SB 21 white. Macroscopic identification found that all isolates have Gram-negative types, and red cell color, for SB 6 cell shape is round and SB 13, 19, 20, 21, 23 bacilli (rods). The results of biochemical tests of cellulose-producing acid-resistant bacteria are all positive in the catalase test, Simmons Citrate test and carbohydrate fermentation test. The Indole test and Voges Proskauer test obtained negative test results on all isolates. The starch hydrolysis test was only positive on SB 21. The gelatin hydrolysis test was positive on isolates SB 6, 20, 21, 23, negative on isolates SB 13 and SB 19. The motility test for SB 6, 13, 19, 21 was positive, for SB 23 it was negative. The Methyl Red test was positive on isolates SB 6, 19, 20, 23, negative on isolates SB 13 and SB 21.

Keywords: Acid-tolerant bacteria, Bacterial cellulose, Fruit waste.

Pendahuluan

Biopolimer alami semakin banyak dikembangkan karena sifatnya yang ramah lingkungan, dapat diperbarui, dan berpotensi menggantikan bahan sintesis dalam berbagai aplikasi industri. Salah satu biopolimer paling melimpah di alam adalah selulosa, yang berperan penting sebagai komponen struktural dinding sel tumbuhan dan banyak dimanfaatkan di berbagai sektor industri seperti tekstil, pangan, dan biomedis (Yanti et al., 2020; Mehrotra et al, 2023; Fernianti et al.,

2018; Costa et al., 2017).

Selulosa merupakan polimer linier yang tersusun dari ikatan β -1,4-glukosa sehingga bersifat kristalin dan tidak mudah larut (Amrillah et al., 2022; Suparno, 2020; Fatriasari et al., 2019; Harianja et al., 2015). Umumnya, selulosa disintesis oleh tanaman sebagai polimer alami melimpah (Fernianti et al., 2018; Costa et al., 2017). Namun demikian, beberapa mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan alga juga mampu mensintesis selulosa secara alami. Bakteri Gram-negatif dari genus *Acetobacter*, *Agrobacterium*,

Gluconacetobacter, *Rhizobium*, *Achromobacter*, dan *Azotobacter* diketahui mampu menghasilkan selulosa dengan efisiensi tinggi (Sembiring, 2019; Sukmawati, 2018; Horikawa, 2022; Rangaswamy et al., 2015; Singh et al., 2019).

Secara kimia, terdapat kesamaan komposisi antara selulosa tumbuhan maupun bakteri, tetapi berbeda dari segi struktur dan sifat fisik (Almihiyawi et al., 2024). Selulosa bakteri memiliki derajat polimerisasi dan kristalinitas yang lebih tinggi dibandingkan selulosa tumbuhan, sehingga menghasilkan kekuatan mekanik yang lebih baik (Liau et al., 2023). Keunggulan ini menjadikan selulosa bakteri banyak digunakan dalam industri dan dianggap sebagai alternatif ramah lingkungan pengganti selulosa tumbuhan (Singh et al., 2019; Rangaswamy et al., 2015; Herwin et al., 2020).

Selain itu, selulosa bakteri memiliki tingkat kemurnian yang sangat tinggi, karena tidak mengandung hemiselulosa, lignin, pektin, ataupun lilin (Mehrotra et al., 2023). Kristalinitasnya yang mencapai 60–90% menyebabkan material ini memiliki kekuatan serat yang tinggi (Karimah et al., 2021). Karena sifatnya yang biokompatibel, mudah terdegradasi, dan tidak toksik, selulosa bakteri telah dimanfaatkan secara luas dalam bidang biomedis (misalnya sebagai pembalut luka), industri makanan (nata de coco), serta industri tekstil sebagai bahan baku pakaian (Yanti et al., 2020; Mehrotra et al., 2023).

Meskipun memiliki potensi besar, produksi selulosa bakteri masih memerlukan optimalisasi, terutama melalui eksplorasi mikroorganisme dari sumber alternatif yang kaya nutrisi dan mampu bertahan di kondisi ekstrem. Sampah buah-buahan (termasuk kulit dan bijinya) merupakan substrat potensial karena memiliki kandungan karbon kompleks serta lingkungan asam yang sesuai bagi pertumbuhan bakteri tertentu. Namun, hingga kini belum banyak penelitian yang secara spesifik mengkaji keragaman bakteri tahan asam penghasil selulosa dari sumber tersebut.

Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi bakteri tahan asam penghasil selulosa yang diperoleh dari sampah buah-buahan terfermentasi, sebagai langkah awal dalam pemanfaatan sumber hayati

lokal untuk produksi selulosa ramah lingkungan. Melalui identifikasi dan karakterisasi ini, diharapkan dapat ditemukan isolat bakteri unggul yang memiliki kemampuan sintesis selulosa tinggi serta stabil pada kondisi asam.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian ini berlangsung pada bulan Agustus 2024 hingga bulan Desember 2024 di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, Departemen Biologi. Lokasi sampling sampah buah dilakukan di Pasar Keputih, Kecamatan Sukolilo, Surabaya.

Alat dan bahan

Alat penelitian antara lain autoklaf, neraca analitik, jarum ose, bunsen, tabung reaksi, tabung Erlenmeyer 500 ml, cawan petri, kaca objek, kaca penutup, pengaduk magnetik, LAF (*Laminar Air Flow*), spektrofotometer, penggaris, pipet tetes, gelas ukur, spatula, pH meter, mikroskop,

Bahan yang digunakan adalah bakteri tahan asam yang diperoleh dari isolasi sampah buah dan isolat *Acetobacter xylinum* sebagai standar yang diperoleh dari Lembaga Ilmu Hayati, Teknik, dan Rekayasa Universitas Airlangga Surabaya, *yeast extract*, asam sitrat, glukosa, pepton, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, KOH, H_2SO_4 2 N, HCl 2 M, NaOH 2 M, akuades, alkohol 70%, plastik wrap, kertas koran, aluminium foil, dan spirtus.

Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari Pasar Sentra Keputih di Jl. Keputih, Desa Keputih, Kecamatan Sukolilo, Surabaya, Jawa Timur. Sampel diambil berupa sampah buah beserta biji dan kulit kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik zip (*ziplock*) dan dibawa menggunakan media transport ke Laboratorium untuk pengujian selanjutnya.

Isolasi dan Purifikasi Bakteri Tahan Asam

Sampah buah dipotong hingga kecil dan halus untuk difermentasi pada suhu ruang selama 48 jam. Hasil fermentasi ditimbang sebanyak 1 g dan dihomogenkan ke dalam 9 mL larutan fisiologis steril secara aseptis. Larutan yang telah homogen diencerkan dengan metode pengenceran bertingkat hingga pengenceran 10^{-6} .

Isolasi dan purifikasi bakteri tahan asam ditumbuhkan pada media Hestrin-Schramm dengan komposisi D-Glukosa 20 g/L, pepton 5 g/L, ekstrak yeast 5 g/L, Na_2HPO_4 2.7 g/L, asam sitrat 1.15 g/L, dan agar 15 g/L ke dalam 1 L akuades, medium kemudian diautoklaf. Hestrin-Schramm menjadi media selektif karena berfungsi untuk mempertahankan pH agar sesuai dengan lingkungan bakteri tahan asam penghasil selulosa (Almiyawi et al., 2024).

Setiap sampel yang telah diencerkan, diambil 100 μl kemudian dimasukkan ke dalam media Hestrin-Schramm agar dan di-*spread* hingga rata serta meresap ke dalam media. Isolat diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang (Herwin et al., 2020). Isolat murni yang digunakan adalah *Acetobacter xylinum* yang digunakan sebagai pembanding isolat yang didapat dari isolasi sampah buah-buahan. Setelah inkubasi isolat bakteri tumbuh diambil 1 Ose kemudian dimasukkan ke dalam media Hestrin-Schramm agar yang baru dengan metode *streak*, begitupun koloni bakteri berbeda lainnya dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

Skrining Isolat dan Subkultur Isolat Potensial Penghasil Selulosa

Seluruh hasil purifikasi bakteri dilanjutkan dengan skrining bakteri penghasil selulosa. Skrining dilakukan dengan memasukkan bakteri sebanyak 1 Ose ke dalam 10 mL medium Hestrin-Schramm *broth* (D-Glukosa 20 g/L, pepton 5 g/L, ekstrak yeast 5 g/L, Na_2HPO_4 2.7 g/L, dan asam sitrat 1.15 g/L). Media di setiap tabung diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Tabung yang membentuk lapisan folikel putih di atas permukaan medium selama inkubasi, akan dipilih sebagai isolat bakteri penghasil selulosa (Herwin et al., 2020; Abba et al., 2022).

Identifikasi Fentotipik (Makroskopis dan Mikroskopis)

Hasil skrining bakteri penghasil selulosa diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan pada morfologi bentuk koloni, bentuk tepi, bentuk elavasi, dan warna koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan metode pewarnaan Gram untuk menentukan jenis bakteri Gram positif atau negatif (Herwin et al., 2020; Abba et al., 2022). Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

Hasil pewarnaan berwarna ungu jika bakteri berjenis Gram positif dan berwarna merah jika bakteri berjenis Gram negatif (Nuryanti et al., 2021; Herwin et al., 2020).

Uji Biokimia

Uji katalase, dilakukan dengan meneteskan H_2O_2 3% di atas kaca objek yang telah berisi koloni bakteri dan diamati apakah terjadi penguraian hidrogen peroksida. Hasil dikatakan positif apabila enzim katalase terbentuk yang ditunjukkan oleh munculnya gelembung oksigen akibat penguraian hidrogen peroksida. Sebaliknya, jika tidak ada gelembung, hasilnya dinyatakan negatif (Siruwahni & Rasyidah, 2023). Uji Fermentasi Karbohidrat dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke dalam media uji, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna medium menjadi kuning serta munculnya gelembung atau gas di dalam tabung Durham, yang menandakan terjadinya proses fermentasi (Siruwahni & Rasyidah, 2023).

Uji hidrolisis pati dilakukan dengan menggunakan medium agar pati (Husna et al., 2018). Setiap isolat, diinokulasikan pada cawan petri berisi medium agar pati dan diinkubasi pada suhu 25-27°C selama 24 jam. Setelah terlihat adanya pertumbuhan, larutan iodium atau lugol ditetaskan di sekitar koloni bakteri pada medium tumbuh dan dibiarkan selama beberapa menit. Jika terbentuk daerah bening disekitar koloni menandakan terjadinya hidrolisis pati oleh enzim amilase (Chusniasih et al., 2023).

Uji Hidrolisis Gelatin dilakukan dengan cara menginokulasikan bakteri ke dalam medium nutrient gelatin, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Isolat diinkubasi kembali pada suhu 4°C selama 30 menit. Hasil positif jika medium memadat dan negatif jika media tetap cair (Nuryanti et al., 2021). Uji motilitas dilakukan dengan menusukkan bakteri ke dalam media Sulfite Indole Motility semi padat pada tabung reaksi menggunakan jarum Ose tusuk steril. Tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditandai dengan penyebaran pertumbuhan bakteri (menunjukkan sifat motil), sedangkan hasil negatif terlihat jika pertumbuhan hanya membentuk satu garis lurus tanpa penyebaran (Chusniasih et al., 2023; Nuryanti et al., 2021).

Uji indol menggunakan media berupa Sulfida Indol Motil (SIM). Uji Indol dilakukan dengan inokulasi bakteri sebanyak 1 jarum Ose pada tabung reaksi berisi media SIM, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah masa inkubasi selesai, setiap tabung ditetesi pereaksi indol sebanyak 0,2–0,3 mL, lalu dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Hasil positif ditandai dengan munculnya cincin berwarna merah ceri di permukaan media, sedangkan warna jingga menunjukkan hasil negatif (Sari & Apridamayanti, 2014).

Uji Metil Red dilakukan dengan cara diambil 1 Ose biakan bakteri kemudian diinokulasikan ke dalam media MR-VP. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah inkubasi, dilakukan penambahan 5 tetes *methyl red*, dikocok perlahan dan didiamkan selama beberapa menit (Siruwahni & Rasyidah, 2023). Perubahan warna menjadi merah menunjukkan hasil positif, sedangkan warna kuning menandakan hasil negatif (Sari & Apridamayanti, 2014).

Uji Voges-Proskauer dilakukan dengan cara diambil 1 Ose bakteri dan diinokulasikan ke dalam media MR-VP, kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Selanjutnya, media ditambahkan tiga tetes larutan α -naftol dan dua tetes larutan KOH 40%. Media dikocok perlahan dan dibiarkan selama beberapa menit. Terbentuknya warna merah muda hingga merah tua menunjukkan reaksi positif, sedangkan tidak adanya perubahan warna menandakan hasil negatif (Sari & Apridamayanti, 2014).

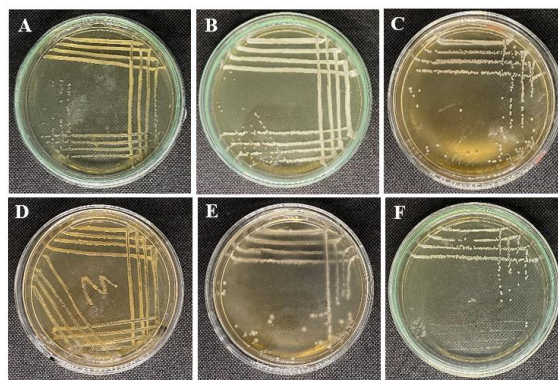
Uji Simmon's sitrat dilakukan dengan cara diambil 1 Ose dari biakan NA miring ke dalam medium Simmons Citrate, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna medium menjadi biru, sementara warna yang tetap hijau menunjukkan hasil negatif (Sari et al., 2019; Siruwahni & Rasyidah, 2023).

Hasil dan Pembahasan

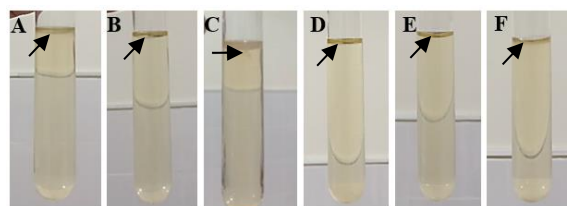
Isolasi, Purifikasi, dan Skrining Bakteri Tahan Asam dari Sampah Buah

Hasil isolasi dan purifikasi bakteri dari sampah buah didapatkan sebanyak 23 isolat bakteri tahan asam. Untuk mendapatkan bakteri penghasil selulosa, dilakukan skrining dengan ditumbuhkan pada media Hestrin-Schramm

broth (Herwin et al, 2020). Hasil skrining didapatkan 6 dari 23 isolat tahan asam merupakan bakteri menghasilkan selulosa (Gambar 1). Uji skrining menggunakan medium Hestrin-Schramm *broth* bertujuan agar selulosa yang berbentuk benang dapat mengapung dan membentuk folikel berwarna putih di atas permukaan medium cair (Gambar 2).



Gambar 1. Koloni Bakteri Penghasil Selulosa pada medium Hestrin-Schramm agar (A) SB 6 (B) SB 13 (C) SB 19 (D) SB 20 (E) SB 21 (F) SB 23.



Gambar 2. Pembentukan Selulosa pada Media Hestrin-Schramm Broth (A) Isolat SB 6 (B) Isolat SB 13 (C) Isolat SB 19 (D) Isolat SB 20 (E) Isolat SB 21 (F) Isolat SB 23. Tanda panah menunjukkan selulosa yang terbentuk.

Terbentuknya lapisan selulosa pada 6 bakteri tersebut, disebabkan oleh kemampuannya menghasilkan enzim ekstraseluler yang berperan dalam mempolimerisasi gula, khususnya glukosa, menjadi rantai panjang berupa homopolimer selulosa. Dari jutaan sel bakteri yang berkembang di dalam medium, akan terbentuk jutaan serat halus selulosa yang saling berikatan, sehingga tampak sebagai lapisan padat berwarna putih hingga transparan (Wibowo & Isroi, 2015; Wasim et al., 2022).

Proses pembentukan selulosa oleh bakteri diawali dengan penyerapan glukosa, kemudian terjadi reaksi isomerase yang mengubah glukosa-

6-fosfat menjadi glukosa-1-fosfat. Senyawa ini selanjutnya bereaksi dengan uridin-5-trifosfat (UTP) membentuk uridin difosfat glukosa (UDP-glukosa). Melalui enzim selulosa sintase, UDP-glukosa diubah menjadi rantai linier 1,4-glukan. Aktivasi rantai glukan ini dikatalisis oleh siklik di-GMP, sehingga memungkinkan serat selulosa yang terbentuk untuk dikeluarkan melalui pori-pori pada dinding sel bakteri (Boby et al., 2021). Bakteri mengubah glukosa menjadi selulosa karena selulosa memberikan perlindungan struktural dan kimiawi (Boby et al., 2021).

Identifikasi Morfologi Bakteri Penghasil Selulosa

Setiap isolat yang positif menghasilkan selulosa diidentifikasi menggunakan panduan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* secara makroskopik dan mikroskopik. Pengamatan makroskopis yang dilakukan pada isolat bakteri penghasil selulosa diantaranya meliputi pengamatan bentuk koloni, bentuk tepi koloni, permukaan koloni, bentuk elevasi, dan warna koloni. Hasil pengamatan makroskopis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik Secara Makroskopik Bakteri Tahan Asam Penghasil Selulosa

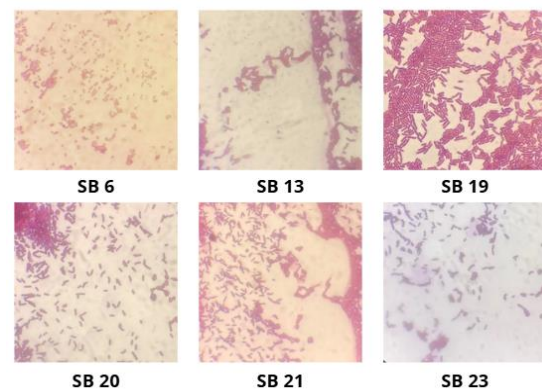
Isolat	Bentuk Koloni	Bentuk Tepi Koloni	Permukaan Koloni	Bentuk Elevasi	Warna Koloni
SB 6	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengilap	<i>Convex</i>	Krem Kuning
SB 13	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengilap	<i>Convex</i>	Krem
SB 19	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengilap	<i>Convex</i>	Krem
SB 20	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengilap	<i>Convex</i>	Krem Oranye
SB 21	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengilap	<i>Convex</i>	Putih
SB 23	<i>Circular</i>	<i>Entire</i>	Mengilap	<i>Convex</i>	Krem

Identifikasi bakteri secara mikroskopis dengan pewarnaan Gram bertujuan untuk mengetahui morfologi sel bakteri. Karakterisasi mikroskopis bakteri secara keseluruhan mendapatkan hasil jenis Gram negatif berbentuk batang dan bulat, serta memiliki warna sel merah (Tabel 2).

Tabel 2. Karakteristik Secara Makroskopik Bakteri Tahan Asam Penghasil Selulosa

Isolat	Jenis Gram	Bentuk Sel	Warna Sel
SB 6	Negatif	Bulat	Merah
SB 13	Negatif	Batang	Merah
SB 19	Negatif	Batang	Merah
SB 20	Negatif	Batang	Merah
SB 21	Negatif	Batang	Merah
SB 23	Negatif	Batang	Merah

Hasil identifikasi morfologi bakteri (makroskopis dan mikroskopis) secara keseluruhan memiliki karakteristik yang hampir sama dengan isolat kontrol bakteri Gram negatif tahan asam *Acetobacter xylinum*, tetapi terdapat isolat yang memiliki hasil berbeda. Digunakan *Acetobacter xylinum* karena menjadi bakteri tahan asam yang umum digunakan untuk memproduksi selulosa, sehingga memudahkan dalam proses identifikasi morfologi. Adapun hasil visualisasi bentuk sel dari hasil seleksi menggunakan teknik pewarnaan Gram (Gambar 3).



Gambar 3. Hasil Pewarnaan Gram Isolat Bakteri Tahan Asam Penghasil Selulosa.

Uji Biokimia Bakteri Penghasil Selulosa

Isolat yang telah diidentifikasi secara makroskopis maupun mikroskopis dilanjutkan pengujian biokimia guna menambah keakuratan dalam uji identifikasi bakteri yang didasarkan pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Bakteri penghasil selulosa yang diperoleh menunjukkan hasil yang beragam. Tabel 3 menunjukkan hasil uji katalase, fermentasi karbohidrat, hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, indol, motilitas, MR-VP, dan Simmons Sitrat.

Tabel 3. Hasil Uji Biokimia Bakteri Tahan Asam Penghasil Selulosa

Uji Biokimia	SB 6	SB 13	SB 19	SB 20	SB 21	SB 23
Katalase	+	+	+	+	+	+
Fermentasi Karbohidrat	+	+	+	+	+	+
Hidrolisis Pati	-	-	-	-	+	-
Hidrolisis Gelatin	+	-	-	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-
Motilitas	+	+	+	+	+	-
Metil Merah	+	-	+	+	-	+
Voges Proskauer	-	-	-	-	-	-
Simmons Sitrat	+	+	+	+	+	+

Hasil uji katalase menunjukkan positif pada semua isolat bakteri potensial karena terdapat gelembung yang terbentuk. Hal tersebut mengindikasikan seluruh isolat mampu menghasilkan enzim katalase yang mengubah hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen (Chusniasih et al., 2023). Menurut Amalia et al (2022) tujuan dilakukannya uji katalase untuk menentukan kemampuan bakteri dalam memproduksi enzim katalase, yang berfungsi untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen. Uji berikutnya yakni fermentasi karbohidrat, hasil uji ini menunjukkan media berubah dari merah menjadi kuning pada seluruh isolat, hal ini mengindikasikan bahwa bakteri dapat memfermentasi karbohidrat, menghasilkan asam yang menurunkan pH media.

Uji ketiga adalah hidrolisis pati yang memperoleh hasil negatif pada isolat SB 6, SB 13, SB 19, SB 20, SB 23 dan hasil positif pada SB 21. Hasil negatif mengindikasikan bakteri tidak dapat menghidrolisis pati menjadi glukosa sehingga tidak ada perubahan warna media yang mengandung pati dan sebaliknya. Uji keempat adalah uji hidrolisis gelatin, hasilnya menunjukkan negatif pada isolat SB 13, SB 19 yang ditandai media tetap cair. Hasil positif pada kode isolat SB 6, SB 20, SB 21, SB 23 yang ditandai dengan perubahan media yang awalnya cair menjadi padat. Hasil negatif mengindikasikan bahwa bakteri tidak menghasilkan enzim gelatinase yang diperlukan untuk menghidrolisis gelatin, menunjukkan bahwa SB 13 dan SB 19 tidak menggunakan gelatin sebagai sumber nutrisi.

Uji selanjutnya adalah Indol, dilakukan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam memecah asam amino triptofan. Berdasarkan hasil pengujian, seluruh isolat menunjukkan reaksi negatif, yang berarti tidak memiliki kemampuan untuk menghidrolisis triptofan. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada medium uji setelah penambahan reagen kovac's dan reaksi negatif ditandai dengan lapisan reagen tetap berwarna kuning atau sedikit keruh. Terbentuknya warna merah disebabkan oleh adanya senyawa indol dalam medium yang diekstrak ke lapisan reagen oleh komponen asam butanol, kemudian bereaksi dengan p-dimetilaminobenzaldehida membentuk kompleks berwarna merah (Fallo & Sine, 2016).

Uji motilitas mendapatkan hasil negatif pada isolat bakteri SB 23 yang ditandai tidak adanya pergerakan bakteri pada media di bagian awal inokulasi, sedangkan pada SB 19, SB 6, SB 13, SB 20, dan SB 21 mendapatkan hasil positif yang ditandai dengan adanya pergerakan kearah atas media sejalan dengan arah tusukan pada saat inokulasi di media. Berdasarkan penelitian Haseena & Najla (2024) menyatakan bahwa genus *Acetobacter* dapat memiliki hasil positif maupun negatif (motil/non-motil) pada uji motilitas, tergantung pada strainnya. *Acetobacter* yang motil memiliki flagela peritrik.

Selanjutnya uji MR mendapatkan hasil positif pada isolat SB 6, SB 19, SB 20, dan SB 23, sedangkan negatif pada isolat SB 13 dan SB 21. Isolat positif menandakan bakteri menghasilkan produk akhir asam yang stabil dari fermentasi glukosa begitupun sebaliknya. Terdapat perubahan warna media menjadi merah apabila hasil positif dan warna kuning atau tidak berwarna jika hasilnya negatif. Hasil uji Voges-Proskauer (VP) menunjukkan reaksi negatif pada seluruh isolat, ditandai dengan warna media yang tetap kuning (tidak berwarna). Hal ini mengindikasikan bahwa bakteri tersebut tidak mampu menghasilkan senyawa non-asam atau produk akhir netral, seperti asetilmetilkarbinol, yang umumnya terbentuk dari hasil metabolisme glukosa.

Uji Simmons sitrat dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Seluruh isolat menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan perubahan warna medium dari hijau menjadi biru. Perubahan warna ini menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon serta ammonium dihidrogen fosfat sebagai sumber nitrogen, sehingga menghasilkan senyawa bersifat basa yang menyebabkan indikator pH *bromthymol blue* berubah warna dari hijau menjadi biru. Berdasarkan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan penelitian dari Hassena & Najla (2024), Lavasani et al., (2017), serta Hidayat et al., (2018) uji biokimia yang dihasilkan memiliki kemiripan hasil dengan genus *Acetobacter* yang menjadi isolat kontrol.

Kesimpulan

Bakteri tahan asam yang berhasil diisolasi sebanyak 23 bakteri dan 6 diantaranya merupakan bakteri penghasil selulosa. Karakterisasi morfologi menunjukkan keseragaman bentuk koloni (*circular*, *entire*, *convex*, mengilap) dengan variasi warna, sedangkan identifikasi mikroskopis mengonfirmasi bahwa seluruh isolat merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang dengan pengecualian SB 6 yang berbentuk bulat. Uji biokimia menunjukkan keseragaman hasil positif pada katalase, Simmoms Citrate, dan fermentasi karbohidrat, serta negatif pada indol dan Voges Proskauer, dengan variasi pada uji hidrolisis pati, hidrolisis gelatin, motilitas, dan *Methyl Red*. Isolat bakteri tahan asam penghasil selulosa yang diperoleh memiliki karakter morfologi dan sifat dasar serupa, namun menunjukkan keragaman fisiologis yang signifikan sehingga berpotensi untuk diseleksi sebagai kandidat unggul penghasil selulosa.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember karena telah memberikan izin untuk melakukan pengujian isolasi dan karakterisasi bakteri di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi, serta Bapak/Ibu dosen yang telah memberikan kritik/saran yang membangun selama penyelesaian penelitian ini.

Referensi

- Abba, M., Nyakuma, B. B., Ibrahim, Z., Ali, J. B., Razak, S. I. A., & Salihu, R. (2022). Physicochemical, morphological, and microstructural characterisation of bacterial nanocellulose from *Gluconacetobacter xylinus* BCZM. *Journal of Natural Fibers*, 19(11), 4368-4379. doi: <http://dx.doi.org/10.1080/15440478.2020.1857896>.
- Almihyaw, R. A., Elshan, M., Nazeer, A., Sitong, Z., Huan, C. (2024). Produksi dan Karakterisasi Selulosa Bakteri Oleh *Rhizobium* sp. yang Siisolasi Dari Akar Kacang. *Rep Sains* 14, 10848 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61619-w>.
- Amalia, D., Nisrina, N. R., Nor, H., Rina, O., Zevira, F. A., Bambang, S., Sri, A. (2022). Pengaruh Volume Substrat Terhadap Kerja Enzim Katalase Menggunakan Respirometer Ganong Sebagai Rekonstruksi Desain Kegiatan Praktikum Siswa. *Journal of Biology Education Science & Technology*. Vol 5 (2), hal 02-17. ISSN : 2614-8064. <https://jurnal.uisu.ac.id/index.php/best/article/view/5361>.
- Amrillah, N. A. Z., Hanum, F. F., & Rahayu, A. (2022). Studi Efektivitas Metode Ekstraksi Selulosa dari Agricultural Waste. In *Prosiding Seminar Nasional Penelitian LPPM UMJ*. Vol. 1, No. 1. E-ISSN: 2745-6080. E-ISSN : 2745-6080. <http://jurnal.umj.ac.id/index.php/semmaslit>.
- Boby, C. A., Roni, A., Muhsin, S. (2021). Produksi, Karakterisasi dan Aplikasi Selulosa Bakteri di Bidang Farmasi. *Journal Of Pharmacy and Science*. Vol 4, No. 2. Hal 12-28. doi : <https://doi.org/10.36341/jops.v4i2.1887>.
- Chusniasih, D., Erma S., Erinaa, S. (2023). Isolasi dan Uji Aktivitas Selulolitik Bakteri Asal Limbah Bagas. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*. 28 (3), 3386-395. doi: <https://doi.org/10.18343/jipi.28.3.386>.
- Costa, C., Nuno, G. A., Carla, S., Eduardo, F. M. (2020). Textile Industry in a Changing World: Challenges of Sustainable Development. *U. Porto Journal of Engineering*. Vol 6. No. 2 : 86-97. doi: https://doi.org/10.24840/2183-6493_006.002_0008.
- Fallo, Gergonius, & Yuni, S. (2016). Isolasi dan Uji Biokimia Bakteri Selulolitik Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes* Spp.). *Bio-Edu*. Vol 1, No. 2, pp. 27-29. ISSN : 2527-6999. <https://jurnal.unimor.ac.id/index.php/JBE/article/view/501/286>.
- Fatriasari, W., Masruchin, N. and Hermiati, E. (2019). Selulosa: Karakteristik dan Pemanfaatannya. Jakarta: LIPI Press. ISBN: 978-496-047-6. doi:

- <https://penerbit.brin.go.id/press/catalog/book/penerbit.brin.go.id/press/catalog/book/174>.
- Fernianti, D., Atikah, Endang, L. (2018). Pengaruh Waktu dan Ratio Volume Ekstrak Air Belimbing Wuluh : Air Pada Proses Ekstraksi Selulosa Dalam Seludang Pisang. *Distilasi*, Vol 3 (1) : 35-40. ISSN: 2528-7397. doi: <https://jurnal.um-palembang.ac.id/index.php/distilasi/article/viewFile/1877/1537>.
- Harianja, J. W., Idiawati, N., & Rudyansyah. (2015). Optimasi Jenis dan Konsentrasi Asam pada Hidrolisis Selulosa dalam Tongkol Jagung. *JKK*. Vol 4, No. 4, 66–71. ISSN: 2303-1077. doi: <https://jurnal.untan.ac.id/index.php/jkkmipa/article/view/11604>.
- Haseena, M., Najla, A.A., Moehamed, A.S. (2024). Identification of Cellulose Producing Bacterial Strains: An Eco-Friendly and Cost-effective Approach. *Journal Pure Appl Microbiology*. Vol 18, No. 1. doi: <http://dx.doi.org/10.22207/JPAM.18.1.32>.
- Herwin, H., Fitriana, F., Ayyub, H. N. (2020). Isolasi Bakteri Penghasil Selulosa Dari Buah-Buahan Di Pasar Tradisional Makassar. *Jurnal Farmasi*. Vol 12, No. 1: 47-50. ISSN: 2502-9444. doi: <https://jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/as-syifaa/article/view/618>.
- Horikawa, Y., Tatsuki, K., Yuto, H., Ryota, K., Satoshi, N., Ryo, F. (2022). Effect of Orientation and Degree of Polymerization on Tensile Properties In The Cellulose Sheets Using Hierarchical Structure of Wood. *Cellulose*. 29;2885-2898. doi: <https://doi.org/10.1007/s10570-021-04160-7>.
- Husna, A., Yuliani, Lisa, L. (2018). Identifikasi Bakteri Endofit Isolat B2 dan B3 dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) var. Papua Patippi Berdasarkan Karakter Fenotipik. *Lentera Bio*. Vol. 7 No. 1: 76-82. ISSN: 2252-3979. doi: <http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/len terabio>.
- Karimah, A., Ridho, M. R., Munawar, S. S., Adi, D. S., Damayanti, R., Subiyanto, B., & Fudholi, A. (2021). A review on natural fibers for development of eco-friendly bio-composite: characteristics, and utilizations. *Journal of materials research and technology*, 13, 2442-2458. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.06.014>.
- Liau, S. S., Hidayat, M., & Sulisty, H. (2023). Potensi Selulosa Bakteri Sebagai Pembalut Luka Ideal dan Penghantar Obat (*Drug Delivery*). In *Seminar Nasional Teknik Kimia "Kejuangan"*. (pp. 2-1). ISSN: 1693-4393. doi : <http://jurnal.upnyk.ac.id/index.php/kejuangan/article/view/10273>.
- Mehrotra, R., Samiksha, S., Nidhi, S., Kohinoor, K. (2023). Bacterial Cellulose: An Ecological Alternative as A Biotextile. *Biosciences Biotechnology Research Asia*. Vol 20 (2): 449-463. doi: <http://dx.doi.org/10.13005/bbra/3101>.
- Nuryanti, S., Fitriana, A. Rini, P. (2021). Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Selulosa Dari Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*). *Jurnal Farmasi*. Vol 13, No. 91, 71-79. EISSN: 2085-4714. doi: <https://jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/as-syifaa/article/view/770>.
- Rangaswamy, B. E., Basavaraj, S. H. (2015). Microbial Cellulose Production From Bacteria Isolated from Rotten Fruit. *International Journal of Polymer Science*. Vol 15 (1). pp 280784. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/280784>.
- Sari R & Apridamayanti P. (2014) Cemar Bakteri Eschericia coli Dalam Beberapa Makanan Laut yang Beredar di Pasar Tradisional Kota Pontianak, *Artikel Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (2): 14-19. doi : <https://doi.org/10.26874/kjif.v2i2.28>.
- Sembiring, A. (2019). Isolasi Dan Uji Aktivitas Bakteri Penghasil Selulase Asal Tanah Kandang Sapi. *Jurnal Biologi Science & Education*. Vol 8 (1). ISSN: 2252-858X. doi: <https://jurnal.iainambon.ac.id/index.php/BS/article/view/843/583>.

- Singh, S.B., Gowtham, H.G., Murali, M., Hariprasad, P., Lakshmeesha, T.R., Murthy, K.N., Niranjana, S.R. (2019). Plant growth promoting ability of ACC deaminase producing rhizobacteria native to Sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 18, 101089. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101089>.
- Siruhwani, D., & Rasyidah, R. (2023). Isolasi dan Aktivitas Bakteri Selulolitik Pada Limbah Diapers. *BIOEDUSAINS: Jurnal Pendidikan Biologi dan Sains*. Vol 6 (2). doi: <https://doi.org/10.31539/bioedusains.v6i2.6641>.
- Sukmawati. (2018). Isolasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Kulit Pisang. *BIOTROPIC The Journal Of Tropical Biology*. Vol 2, No. 1; 46-52. ISSN 2580-5029. doi : <https://jurnalsaintek.uinsa.ac.id/index.php/biotropic/article/view/251>.
- Suparno. (2020). Potensi Dan Masa Depan Serat Alam Indonesia Sebagai Bahan Baku Aneka Industri. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 30 (2): 221-227. doi: <https://doi.org/10.24961/j.tek.ind.pert.2020.30.2.221>.
- Wibowo, N. A., & Isroi. (2015). Potensi *In-Vivo* Selulosa Bakterial Sebagai Nano-Filler Karet Elastomer *Thermoplastics* (ETPS). *Perspektif*. Vol 14, No. 2; 103-112. ISSN: 1412-8004. doi: <https://media.neliti.com/media/publications/160246-ID-potensi-in-vivo-selulosa-bakterial-sebag.pdf>.
- Wasim, M., Mushtaq, M., Saif, U.K., Amjad, F., Naeem, M.A., Khan, M.R., Salam, A., Wei, Q. (2021). Development of Bacterial Cellulose Nanocomposites: Synthesis of Bacterial Cellulose Nanocomposites With Metalic and Metallicoxide Nanoparticles by Different Methods and Techniques for Biomedical Applications. *Journal of Industrial Textiles*. Vol 5 (2S). doi: <https://doi.org/10.1177/1528083720977201>.
- Yanti, N. A., Sitti, W. A., Nurhayani, H. M., La O. A., Suriana, Taufik, W. (2021). Characterization of Bacterial Cellulose

Produced by *Acetobacter xylinum* Strain LKN6 Using Sago Liquid Waste as Nutrient Source. *Journal of Biological Science*. 24, 335-344. doi: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2021.335.344>.