



Karakterisasi *Biofilm* Selulosa Bakteri dengan Modifikasi Gliserol secara *Ex Situ*

Characterization on Bacterial Cellulose Modified Biofilm with Glycerol by Ex Situ Method

Vera Diana Panjaitan, Iriany*, Lilis Sukeksi

Departemen Teknik Kimia, Universitas Sumatera Utara, Jl. Almamater Kampus USU, Medan 20155, Indonesia

*Email: iriany@usu.ac.id

Article history:

Diterima : 6 September 2023
Direvisi : 22 November 2023
Disetujui : 10 Januari 2024
Mulai online : 23 Maret 2024

E-ISSN: 2337-4888

How to cite:

Vera Diana Panjaitan, Iriany, Lilis Sukeksi. (2024). Karakterisasi *Biofilm* Selulosa Bakteri dengan Modifikasi Gliserol secara *Ex Situ*. Jurnal Teknik Kimia USU, 13(1), 17-23.

ABSTRAK

Selulosa bakteri (SB) merupakan biomaterial hasil fermentasi bakteri yang mengandung selulosa dengan kemurnian tinggi, namun 90% pelikel SB mengandung air dari proses fermentasinya. Untuk aplikasi yang luas, kandungan air pada SB harus dihilangkan dengan pengeringan. Penelitian ini memodifikasi SB dengan perendaman gliserol pada konsentrasi yang berbeda (0%; 2,5%; 5%; 7,5%; 10%). Gliserol ditambahkan sebagai *plasticizer*. Pengeringan oven dilakukan pada 80 °C dan 120 °C selama 60 menit. Serangkaian perubahan sifat fisik dan mekanik dari biofilm SB dianalisis, meliputi kekuatan tarik dan elastisitas. Ikatan biofilm SB diidentifikasi dengan FTIR dan EDX. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi gliserol mampu meningkatkan elastisitas biofilm dari 3,46% hingga 27,743%. Namun, perendaman gliserol di atas 7,5% menyebabkan penurunan kekuatan tarik biofilm SB. Variasi pengeringan 120 °C menghasilkan kuat tarik tertinggi sebesar 7,161 MPa pada perendaman gliserol 7,5%. Variasi pengeringan 80 °C menghasilkan biofilm dengan elastisitas terbaik sebesar 27,473%. Hasil analisis FTIR dan EDX mengonfirmasi bahwa terdapat perbedaan kandungan pada SB yang telah dimodifikasi.

Kata kunci: biofilm, gliserol, pengeringan, selulosa bakteri, oven

ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) is biomaterial from bacterial fermentation that contain high purity of cellulose, but 90% of BC pellicles retained water from the fermentation process. In this study, BC was modified with glycerol immersion in different concentrations (0%; 2,5%; 5%; 7,5%; 10%). For wide application, water content on BC must be removed by drying. Various oven drying condition are temperature 80 °C and 120 °C and time 60 minutes. The physical and mechanical properties of the dried BC biofilm were determined including tensile strength and elasticity. BC biofilm bound was identified by FTIR and EDX. The results showed that glycerol concentration was able to increase biofilm elasticity from 3.46% to 27.743%. However, glycerol immersion above 7.5% caused a decrease in the tensile strength of BC biofilm. The drying variation of 120 °C produces the highest tensile strength of 7.161 MPa when soaked in 7.5% glycerol. The drying variation of 80 °C produced a biofilm with the best elasticity of 27.473%. The results of FTIR and EDX analysis confirmed that there were differences in the contents of the modified BC.

Keyword: biofilm, glycerol, drying, bacterial cellulose, oven



This work is licensed under a Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International license.
<https://doi.org/10.32734/jtk.v13i1.13560>

1. Pendahuluan

Selulosa bakteri (SB) adalah bahan biopolimer yang memiliki sifat biokompatibilitas, biodegradabilitas, derajat kristal dan porositas tinggi, serta retensi air yang besar [1]. Melalui sintesis biologi menggunakan bakteri, selulosa dapat dihasilkan dari fermentasi teh dan ragi [2], teh hitam dan limbah jus apel [3], limbah minuman jagung [4], air kelapa tua [2], dan lain sebagainya. Pemanfaatan air kelapa tua sebagai bahan baku selulosa bakteri dinilai menjanjikan karena Indonesia menghasilkan 2.822,60 ribu ton kelapa pada tahun 2021 [5]. Selulosa bakteri membentuk rantai linier residu glukosa yang terkait secara kovalen antara karbon 1 dan 4 (β 1-4) yang disebut mikrofibril, dengan karakteristik spesifik seperti polaritas searah dan ketebalan yang bervariasi [6]. SB menarik minat industri dari sektor tekstil karena ketersediaannya yang berkelanjutan dibandingkan dengan selulosa tanaman [7]. Potensi penggunaan SB sangat besar karena sifat keberlanjutannya, tetapi perlu dilakukan beberapa modifikasi untuk memperbaiki sifat dan karakteristik SB yang kaku serta mengandung banyak air. Penelitian ini meninjau modifikasi dan proses penghilangan kadar air untuk memperbaiki karakteristik SB.

Selulosa bakteri murni tanpa modifikasi memiliki elastisitas sebesar 2,28%. Setelah dilakukan modifikasi *ex situ* dengan perendaman gliserol, elastisitas selulosa bakteri meningkat menjadi 19,21%. Modifikasi *ex situ* adalah modifikasi yang dilakukan setelah SB terbentuk [7]. Modifikasi *ex situ* dilakukan dengan cara merendam SB di dalam larutan gliserol untuk mendapatkan elastisitas yang lebih baik. Gliserol yang digunakan sebagai *plasticizer* pada SB dapat menyebabkan penurunan kekuatan ikatan hidrogen antarmolekul yang berdekatan pada rantai selulosanya [8]. Modifikasi ini dilakukan untuk mendapatkan hasil elastisitas SB yang paling memuaskan dan tidak mengganggu mekanisme pertumbuhan selulosanya.

SB dari hasil fermentasi mengandung banyak air dan perlu dihilangkan jika SB ingin diaplikasikan secara luas [8]. Pengeringan adalah salah satu operasi utama polimer yang dilakukan sebelum digunakan. SB dalam bentuk kering lebih mudah ditangani, ringan, dan dapat memperpanjang umur simpan [9]. Hilangnya fleksibilitas pada proses pengeringan merupakan kerugian untuk beberapa aplikasi seperti dalam industri tekstil dan sepatu [10]. Pengeringan SB dengan oven [4, 10, 11] telah dilakukan, tetapi tidak dilaporkan pengaruhnya terhadap performa SB yang dihasilkan. Sejauh ini, tidak pernah dilakukan penelitian tentang selulosa bakteri hasil modifikasi *ex situ* dengan meninjau pengaruh pengeringannya. Penelitian ini fokus kepada pembuatan dan karakterisasi modifikasi selulosa bakteri secara *ex situ* dengan perendaman *plasticizer* gliserol serta perbandingan variasi suhu dan waktu pengeringan menggunakan tekan-oven (perlakuan penekanan dan pengeringan).

2. Metode

Bahan dan Peralatan

Lembaran selulosa bakteri diperoleh dari produsen skala industri rumah tangga di Mabar, Medan, Sumatera Utara. Lembaran selulosa bakteri yang digunakan memiliki dimensi 2,5 cm × 20 cm × 45 cm dan dihasilkan dari fermentasi air kelapa tua menggunakan bakteri *Acetobacter xylinum*, serta gliserol (diperoleh dari CV. Inlo Kreasi Mandiri, Medan) sebagai *plasticizer* dan *aquadest* sebagai pelarut. Peralatan yang digunakan adalah penyaring *stainless steel*, gelas ukur merk Pyrex, wadah tertutup, oven merk Memmert model UNB 200, dan alat beban tekan *Gotech Testing Machine* model GT-7014-A30C.

Pemurnian dan modifikasi SB

SB dipisahkan dari media dengan penyaringan menggunakan penyaring *stainless steel*, kemudian direndam dalam *aquadest* dengan perbandingan 1 : 2 (massa SB : massa *aquadest*) pada suhu 80 °C selama 1 jam pada gelas ukur dan perlakuan diulangi sampai pH netral [12]. Setelah pH SB netral, 100 g SB direndam dalam 300 mL gliserol dengan konsentrasi 2,5% - 10% selama 24 jam pada suhu ruang menggunakan wadah tertutup. Sebelum SB dikeringkan menggunakan oven, pengurangan massa air dilakukan terlebih dahulu. Pengurangan massa air SB dilakukan dengan menggunakan alat beban tekan 25 kg/cm² pada suhu kamar (27 °C) selama 30 detik pada SB, lalu pinggir SB yang melewati plat alat tekan dipotong. Selanjutnya, SB dikeringkan di dalam oven pada 80 °C dan 120 °C selama 60 menit. SB yang telah dikeringkan kemudian dikarakterisasi [7].

Karakterisasi

Kondisi pengujian mengikuti standar ASTM D2209-00 untuk metode pengujian sifat tarik bahan yang menyerupai kulit menggunakan mesin UTM RFT-1350. Kekuatan tarik dan elastisitas dilaporkan sebagai nilai rata-rata yang ditentukan dari setidaknya tiga spesimen. Bentuk morfologi biofilm SB dianalisis menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) tipe JEOL JSM-6510LA. Spesimen sampel dipotong dengan ukuran 0,8 cm × 0,8 cm. Gugus fungsi dan komponen senyawa SB yang telah dimodifikasi dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) tipe UATR Two (*Parkin Elmer*) dan *Energy Dispersive X-Ray* (EDX).

3. Hasil

Kuat Tarik dan Elastisitas

Gliserol telah digunakan sebagai *plasticizer* dalam film berbasis biopolimer karena sifat kelarutannya dalam air, polaritas, berat molekul yang rendah, dan tidak mudah menguap [9]. Perendaman gliserol pada SB diharapkan dapat menambah elastisitasnya. Pengaruh perendaman gliserol dengan konsentrasi berbeda dan pengeringan oven selama 60 menit pada SB dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil kuat tarik dan elastisitas SB

Konsentrasi Gliserol (%)	Suhu (°C)	Kuat Tarik (MPa)	Elongasi (%)
0,0	80	0,942	3,386
	120	0,763	2,000
2,5	80	2,610	13,527
	120	2,678	9,100
5,0	80	5,040	17,049
	120	5,489	10,300
7,5	80	5,894	22,090
	120	7,161	15,657
10,0	80	5,828	27,743
	120	6,200	17,946

Setelah dilakukan proses perendaman, SB dikeringkan menggunakan oven. Pengeringan memiliki tujuan untuk meningkatkan karakteristik yang diharapkan dari SB [13]. Saat SB dikeringkan dengan oven selama 60 menit dan direndam pada konsentrasi gliserol serta suhu yang berbeda, hasil kuat tarik cenderung menurun saat dikeringkan pada suhu 120 °C jika dibandingkan dengan pengeringan pada suhu 80 °C. Selain pengeringan, penambahan konsentrasi gliserol juga menghasilkan perbedaan pertambahan elongasi yang cukup signifikan pada setiap konsentrasinya karena SB memiliki pelikel pada permukaannya, sehingga jika gliserol dikontakkan dengan SB memungkinkan gliserol itu masuk ke dalam rangkaian fibril selulosa melalui pelikel pada permukaan tersebut [14]. *Plasticizer* memengaruhi kekuatan interaksi antarmakromolekul dengan meningkatkan jarak antarmakromolekul dan mengurangi gaya internal yang memberikan lebih banyak fleksibilitas pada film [9]. Tanpa perendaman gliserol, kuat tarik dan elongasi SB saat dikeringkan pada suhu 80 °C hanya sebesar 0,942 MPa. Setelah direndam dengan gliserol 2,5%; kuat tarik SB meningkat menjadi 2,610 MPa. Gliserol dalam jumlah tertentu dapat meningkatkan kekuatan tarik [15]. Hal ini disebabkan oleh adanya pembentukan ikatan hidrogen tambahan antara gugus hidroksil nanofibril dan gliserol [16]. Material dapat bertambah kuat karena ikatan hidrogennya. Saat ikatan hidrogen terbentuk dan terjadi pengulangan, maka akan terbentuk kristalisasi material yang membantu memperkuat material tersebut [17]. Peningkatan kuat tarik terus berlangsung saat konsentrasi gliserol ditingkatkan, tetapi pada perendaman dengan konsentrasi gliserol 10%, kuat tarik SB menurun pada semua variasi suhu pengeringan. Beberapa penelitian menjelaskan bahwa gliserol dapat menyebabkan penurunan kekuatan ikatan hidrogen antarmolekul di antara rantai selulosa yang berdekatan [8]. Dari hasil penelitian ini, diperoleh bahwa penurunan kekuatan tarik disebabkan oleh adanya gliserol sebagai agen *plasticizer* yang menjadikan SB kurang kaku [9]. Karena kekakuannya yang lebih rendah, nilai elongasi dari SB yang telah direndam gliserol menjadi lebih tinggi jika dibandingkan dengan SB yang tidak direndam gliserol pada setiap variasi suhu pengeringan.

SB tanpa perendaman gliserol saat dikeringkan dengan suhu 80 °C memiliki nilai elongasi 3,386%. Setelah direndam dengan gliserol dengan konsentrasi 2,5%; nilai elongasi menjadi 13,527%. Nilai elongasi ini terus bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasi gliserol. Hasil serupa juga diperoleh pada penelitian Rohaeti dkk (2017). Pada saat SB diberi perlakuan dengan gliserol, SB memiliki nilai % elastisitas yang lebih besar dibandingkan dengan SB yang tidak diberi perlakuan dengan gliserol. Saat sebelum diberi perlakuan gliserol, nilai elastisitasnya sebesar 22,18% dan setelah diberi perlakuan dengan gliserol, nilai elastisitasnya menjadi 28,12% [18].

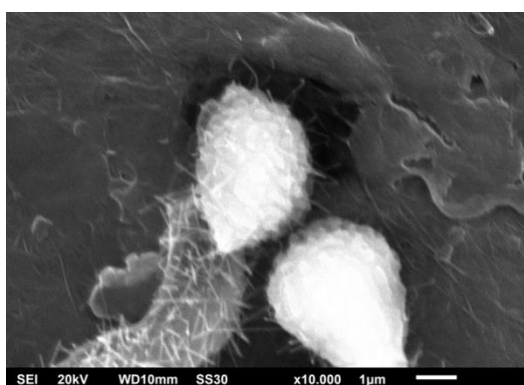
Morfologi SB yang dihasilkan

Biofilm SB berbentuk tipis dengan rata-rata ketebalan 0,2 mm dengan warna putih transparan sedikit kekuningan. Biofilm SB yang direndam dengan gliserol memiliki warna lebih kuning jika dibandingkan dengan SB yang tidak direndam dengan gliserol. Perbedaan perlakuan dan hasil biofilm SB diperlihatkan pada Gambar 1. Secara fisik, tidak dapat dilihat perbedaan yang terlalu signifikan, tetapi jika dilihat lebih dekat

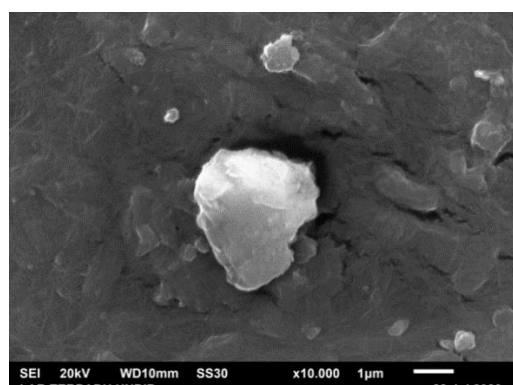
menggunakan SEM, permukaan biofilm SB memiliki sedikit perbedaan saat direndam dengan gliserol. Perbedaan ini disajikan pada Gambar 2.



Gambar 1. Biofilm SB setelah dikeringkan dengan oven



(a)



(b)

Gambar 2. Morfologi SB (a) tanpa perendaman gliserol dan (b) dengan perendaman gliserol

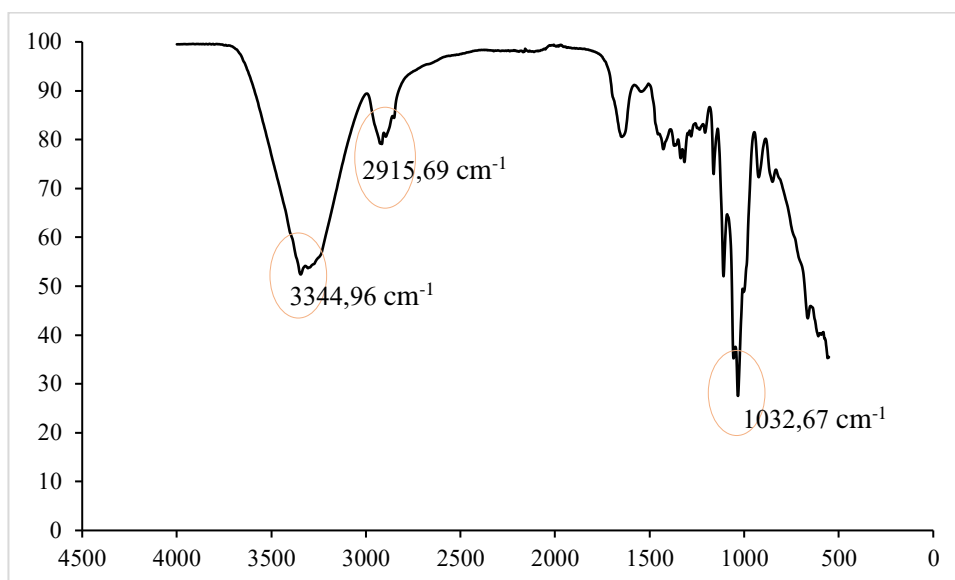
Jika dilihat dari morfologi yang diamati menggunakan SEM, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan pada setiap perlakuan yang diberikan. Pada perlakuan tanpa perendaman gliserol, dapat terlihat bahwa masih ada bakteri yang memproduksi untaian selulosa dan tidak terplastisasi yang ditandai dengan adanya dua untaian berwarna lebih terang pada Gambar 2(a). Saat diperhatikan lebih dekat, terdapat benang fibril yang saling bertautan dengan jalinan benang nano yang dikenal sebagai nanofibril. Hal ini juga terlihat pada penelitian Basu dkk (2018) [19]. Selama bakteri *Acetobacter xylinum* melakukan pertumbuhan, bakteri ini akan menghasilkan benang selulosa di antara dirinya sendiri, setelahnya susunan selulosa ini akan membentuk fibril yang lebih padat, berbeda dengan biofilm SB dengan perendaman gliserol yang dikeringkan dengan oven pada Gambar 2(b). Film terlihat lebih kompak dan terdapat lembah yang terbentuk di antara permukaan film yang kasar. Permukaan film yang kasar menyebabkan terbentuknya luas permukaan yang lebih besar, sehingga film menyediakan tempat yang lebih luas untuk mengikat air [9]. Permukaan film yang kasar meningkatkan luas area yang dapat menyerap air. Terdapat celah atau ruang kosong (*void*) pada Gambar 2(a) dan 2(b). Hal ini menunjukkan bahwa permukaan biofilm SB yang tidak rata disebabkan oleh pemberian tekanan sebelum SB dikeringkan pada oven. Celah ini terbentuk disebabkan oleh besarnya tekanan yang diberikan pada SB, sehingga menyebabkan air keluar merusak matriks SB.

Gugus Fungsi FTIR dan EDX

Tujuan karakterisasi FTIR SB adalah untuk melihat gugus fungsi SB. Karakterisasi FTIR dari SB setelah direndam gliserol dan dikeringkan dapat dilihat pada Gambar 3. Hasil identifikasi jenis-jenis gugus fungsi terkait dengan pita spektrum FTIR yang terbaca pada bilangan gelombang tertentu dapat dilihat pada Tabel 2.

Hasil analisis FTIR biofilm SB pada Tabel 2 menunjukkan gugus hidroksil (-OH) muncul pada daerah bilangan gelombang $3.344,68 \text{ cm}^{-1}$. Gugus -OH ini berhubungan dengan bentangan gugus hidrogen intra dan antarrantai selulosa. Jika dilihat pada Gambar 3, terjadi puncak frekuensi yang tajam. Penambahan gliserol

menyebabkan puncak vibrasi gugus -OH menjadi lebih tajam. Hal ini karena adanya penambahan gugus -OH dari gliserol, sehingga gugus -OH pada film menjadi lebih banyak [20].



Gambar 3. Pola FTIR biofilm SB

Tabel 2. Analisis spektra FTIR biofilm SB

Bilangan Gelombang SB (cm^{-1})	Jenis Ikatan	Bilangan Gelombang Referensi (cm^{-1})	Sumber
3.344,96	-O-H (regangan)	3.300-3.500	[20]
2.915,69	-C-H (regangan)	2.800-2.900	[21]
1.162,64	C-O-C (<i>fingerprint</i>)	1.162	[22]
1.032,67	-C-O (regangan)	1.031	[24]

Gugus lainnya yang ditemukan pada biofilm SB muncul pada daerah bilangan gelombang 2.916,69 cm^{-1} . Bilangan gelombang ini merupakan gugus C-H vibrasi CH_2 dari gugus hidroksimetil ($-\text{CH}_2\text{OH}$) [21]. Gugus glikosidik (C-O-C) muncul pada daerah bilangan gelombang 1.162 cm^{-1} dalam selulosa alam [22]. Gugus serupa terdapat pada biofilm SB dengan bilangan gelombang 1.161,64 cm^{-1} . Ikatan SB dari hasil fermentasi bakteri memiliki ikatan glikosidik selulosanya dari tahapan ketiga saat proses fermentasinya, yaitu reaksi intermolekul glukosa melalui ikatan 1,4 β -glikosida [23].

Terdapat puncak gelombang lain yang terdeteksi pada 1.031,53 cm^{-1} . Pita selulosa khas yang ditunjukkan pada bilangan gelombang 1.031 cm^{-1} sesuai dengan peregangan simetris C-O dari alkohol primer [24]. Regangan ini disebabkan adanya ikatan hidrogen yang dibentuk oleh residu -OH dari alkohol primer dan gugus karboksil ($-\text{COOH}$) yang ditemukan dalam jumlah kecil di ujung fibril yang terbentuk selama purnian SB [25]. Hal ini didukung dengan hasil analisis biofilm dengan menggunakan EDX yang menunjukkan banyaknya kandungan karbon pada biofilm. Perbedaan kandungan SB saat diberi perlakuan perendaman dengan gliserol dan tanpa gliserol juga mempengaruhi kandungan yang terdapat di dalam biofilm SB. Hasil analisis persentase kandungan biofilm dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis persentase kandungan biofilm SB

Komponen	Persentase (% massa)	
	Gliserol	Non-Gliserol
Karbon (C)	97,28	60,94
Oksigen (O)	0,64	37,02
Lainnya	2,08	2,04

4. Kesimpulan

Modifikasi dengan perendaman gliserol 10% menghasilkan kuat tarik biofilm SB yang lebih rendah (5,894 MPa; 80 °C dan 6,200 MPa; 120 °C) dibandingkan dengan perendaman gliserol 7,5% (5,828 MPa; 80 °C dan

7,161 Mpa; 120 °C). Nilai elastisitas biofilm SB semakin meningkat saat konsentrasi gliserol semakin tinggi. Elastisitas biofilm SB tanpa modifikasi dengan suhu pengeringan 80 °C memiliki nilai 3,386% menggunakan modifikasi perendaman gliserol 10% dengan suhu pengeringan 80 °C elastisitas biofilm SB menjadi 27,243%. Kandungan komponen karbon pada biofilm SB tanpa modifikasi gliserol bernilai 60,94% dan saat SB direndam menggunakan gliserol, persen massa karbon menjadi 97,28%. Modifikasi gliserol secara *ex situ* pada SB mempengaruhi kuat tarik, elastisitas, serta mengubah morfologi dan kandungan komponen penyusunnya. Dari modifikasi ini, diperoleh hasil perlakuan terbaik pada perendaman gliserol 7,5% dan pengeringan dengan suhu 120 °C selama 60 menit.

5. Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi atas pendanaan yang diberikan melalui Penelitian Dasar-Penelitian Tesis Magister 2023.

6. Konflik Kepentingan

Semua penulis tidak memiliki konflik kepentingan (*conflict of interest*) pada publikasi artikel ini.

Daftar Pustaka

- [1] F. P. Gomes, N. H. C. S. Silva, E. Trovatti, L. S. Serafim, M. F. Duarte, A. J. D. Silvestre, C. P. Neto, and C. S. R. Freire, "Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue," *Biomass and Bioenergy*, vol. 55, pp. 205–211, 2013.
- [2] K. Vijeandran and T. A. V. Thanh, "Synthesis of vegan leather using plant-based substrates: A preliminary study," *Defect Diffus. Forum*, vol. 411, pp. 57–66, 2021.
- [3] F. A. Ngwabebhoh and U. Yildiz, "Nature-derived fibrous nanomaterial toward biomedicine and environmental remediation: Today's state and future prospects," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 136, no. 35, p. 47878, 2019.
- [4] A. F. de S. Costa, J. D. P. de Amorim, F. C. G. Almeida, I. D. de Lima, S. C. de Paiva, M. A. V. Rocha, G. M. Vinhas, and L. A. Sarubbo, "Dyeing of bacterial cellulose films using plant-based natural dyes," *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 121, pp. 580–587, 2019.
- [5] Badan Pusat Statistik, "Data Ekspor Impor HS 2 Digit November 2022," Indonesia, 2023.
- [6] C. J. G. da S. Junior, J. D. P. de Amorim, A. D. M. de Medeiros, A. K. L. de H. Cavalcanti, H. A. do Nascimento, M. A. Henrique, L. J. C. do N. Maranhão, G. M. Vinhas, K. K. de O. S. Silva, A. F. de S. Costa, and L. A. Sarubbo, "Design of a naturally dyed and waterproof biotechnological leather from reconstituted cellulose," *J. Funct. Biomater.*, vol. 13, no. 2, p. 49, 2022.
- [7] P. Cazón, G. Velazquez, and M. Vázquez, "Characterization of mechanical and barrier properties of bacterial cellulose, glycerol and polyvinyl alcohol (PVOH) composite films with eco-friendly UV-protective properties," *Food Hydrocoll.*, vol. 99, 2020.
- [8] I. Cielecka, M. Szustak, H. Kalinowska, E. Gendaszewska-Darmach, M. Ryngajłło, W. Maniukiewicz, and S. Bielecki, "Glycerol-plasticized bacterial nanocellulose-based composites with enhanced flexibility and liquid sorption capacity," *Cellulose*, vol. 26, no. 9, pp. 5409–5426, 2019.
- [9] N. Chiaoprakobkij, S. Seetabhawang, N. Sanchavanakit, and M. Phisalaphong, "Fabrication and characterization of novel bacterial cellulose/alginate/gelatin biocomposite film," *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 30, no. 11, pp. 961–982, 2019.
- [10] M. Fernandes, A. P. Souto, M. Gama, and F. Dourado, "Bacterial cellulose and emulsified AESO biocomposites as an ecological alternative to leather," *Nanomaterials*, vol. 9, no. 12, 2019.
- [11] H. Kim, J. E. Song, and H. R. Kim, "Comparative study on the physical entrapment of soy and mushroom proteins on the durability of bacterial cellulose bio-leather," *Cellulose*, vol. 28, no. 5, pp. 3183–3200, 2021.
- [12] L. P. dos S. B. de Sousa, P. M. S. C. M. Leite, A. A. Vieira, A. C. Faria, and L. Vieira, "Effect of water and alkali on purification bacterial cellulose membrane from Kombucha," *Res. Soc. Dev.*, vol. 10, no. 15, p. e526101523267, 2021.
- [13] R. Laurenti, M. Redwood, R. Puig, and B. Frostell, "Measuring the environmental footprint of leather processing technologies," *J. Ind. Ecol.*, vol. 21, no. 5, pp. 1180–1187, 2017.
- [14] D. R. Ruka, G. P. Simon, and K. M. Dean, "In situ modifications to bacterial cellulose with the water insoluble polymer poly-3-hydroxybutyrate," *Carbohydr. Polym.*, vol. 92, no. 2, pp. 1717–1723, 2013.
- [15] Z. Ye, H. Lu, G. Chai, C. Wu, J. Chen, and L. Lv, "Glycerol-modified poly(vinyl alcohol)/poly(ethylene glycol) self-healing hydrogel for artificial cartilage," *Polym. Int.*, vol. 72, no. 1, pp. 27–38, 2023.

- [16] S. V. Nguyen and B.-K. Lee, “Microfibrillated cellulose film with enhanced mechanical and water-resistant properties by glycerol and hot-pressing treatment,” *Cellulose*, vol. 28, no. 9, pp. 5693–5705, 2021.
- [17] S. J. Park and M. K. Seo, “Solid-solid interfaces,” *Interface Sci. Technol.*, vol. 18, pp. 253–331, 2011.
- [18] E. Rohaeti, E. F. W. Laksono X, and A. Rakhmawati, “Characterization and the activity of bacterial cellulose prepared from rice waste water by addition with glycerol and chitosan,” *ARPN J. Agric. Biol. Sci.*, vol. 12, no. 8, p. 2017.
- [19] A. Basu, S. V. Vadan, and S. Lim, “A novel platform for evaluating the environmental impacts on bacterial cellulose production,” *Scientific Report*, 2018.
- [20] S. Barshan, M. Rezazadeh-Bari, H. Almasi, and S. Amiri, “Optimization and characterization of bacterial cellulose produced by komagatacibacter xylinus PTCC 1734 using vinasse as a cheap cultivation medium,” *Int. J. Biol. Macromol.*, vol. 136, pp. 1188–1195, 2019.
- [21] M. Ghazali, Y. Meliana, and M. Chalid, “Synthesis and characterization of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* using liquid tapioca waste,” in *Materials Today: Proceedings*, 2021, pp. 2131–2134.
- [22] B. Surma-Ślusarska, S. Presler, and D. Danielewicz, “Characteristics of bacterial cellulose obtained from *Acetobacter xylinum* culture for application in papermaking,” *FIBRES & TEXTILES in Eastern Europe*, vol. 16, no. 4, pp. 108–111, 2008.
- [23] N. R. Nurjannah, T. Sudiarti, and L. Rahmidar, “Sintesis dan karakterisasi selulosa termetilasi sebagai biokomposit hidrogel,” *al-Kimiya*, vol. 7, no. 1, pp. 19–27, 2020.
- [24] G. Pacheco, C. V. de Mello, B. G. Chiari-Andreo, V. L. B. Isaac, S. J. L. Ribeiro, E. Pecoraro, and E. Trovatti, “Bacterial cellulose skin masks-properties and sensory tests,” *J. Cosmet. Dermatol.*, vol. 17, no. 5, pp. 840–847, 2018.
- [25] R. Drozd, M. Szymańska, K. Przygrodzka, J. Hoppe, G. Leniec, and U. Kowalska, “The simple method of preparation of highly carboxylated bacterial cellulose with Ni- and Mg-Ferrite-based versatile magnetic carrier for enzyme immobilization,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 22, no. 16, p. 8563, 2021.