

# Kajian Bahan Pembawa untuk Meningkatkan Kualitas Inokulum Pasta Nata de Coco

## The evaluation of carrier material for increasing qualities of gel inoculum for nata de coco

RUTH MELLIAWATI\*

Pusat Penelitian Bioteknologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong-Bogor 16911

Diterima: 13 Juli 2008. Disetujui: 28 September 2008.

### ABSTRACT

Production of nata de coco is growing fast, in line with increasing product of biocellulose demand. It is require a pure inoculum to reach the best biocellulose product. The aim of this reseach is to evaluate the most appropriate carrier material of gel inoculum for nata de coco. The four carrier material are Carboxy Methyl Cellulose (CMC), Agar, Sagu starch and biocellulose pap and its inoculated by *Acetobacter* sp. RMG-2 and *A. xylinum*. After inoculation, then put in the plastic bag (50 g/bag) and stored in 4° C. The texture of gel, population of cell and biocellulose production were observer in 7 days. The result shown that all matterial were suitable to used as carrier for gel inoculum. Both CMC and biocellulose pap have good texture as standard qualities. Population of *A. xylinum* was  $1.28 \times 10^9$  cfu/mL (in CMC carrier),  $1.6 \times 10^6$  cfu/mL (in biocellulose pap carrier) after 15 weeks. The weight of biocellulose production was 500 g/L and 740 g/L medium respectively. While the population of *Acetobacter* sp. RMG-2 on CMC carrier was  $1.79 \times 10^8$  cfu/mL and  $7.75 \times 10^7$  cfu/mL on cellulose carrier with the weight of biocellulose production 630 g/L and 775 g/L medium respectively. Thus, the carrier material (CMC and Biocellulose pap) are able to keep bacteria without loss their capability to produce cellulose.

© 2008 Jurusan Biologi FMIPA UNS Surakarta

**Key words:** *Acetobacter* sp. RMG-2, *Acetobacter xylinum*, carrier material, gel inoculum, nata de coco.

### PENDAHULUAN

Nata de coco atau bioselulosa merupakan salah satu produk pangan di negara kita, dengan kualitas yang berbeda beda. Di negara maju bioselulosa bukan hanya sekedar untuk keperluan pangan, melainkan dapat digunakan untuk beberapa macam keperluan. Salah satu produk yaitu kristalin murni sangat penting untuk bahan baku industri, sebagai bahan material baru untuk digunakan dalam memproduksi kertas berkualitas (Johnson dan Winslow, 1990 ). Disamping itu bahan ini juga dapat digunakan sebagai bahan aditif (Cannon dan Anderson, 1991), baik digunakan untuk diet dan sebagai makanan penutup. Uji coba lainnya, selulosa bakteri dibuat sebagai kulit buatan (Fontana dkk., 1990), dan sebagai membran ultrafiltrasi (Takai dkk., 1991).

Beberapa tahun terakhir ini permintaan produk nata de coco untuk diekspor cukup besar, sehingga jumlah pengrajin nata de coco berkembang dengan cepat, di Pulau Jawa, Sumatra, Kalimantan, dan Sulawesi. Akibatnya kebutuhan bibit meningkat, sedangkan untuk memperoleh bibit semakin sulit. Permasalahan lain adalah sulitnya pengemasan dan transportasi dalam pengiriman bibit sampai ke lokasi, karena bibit yang ada saat ini berupa cairan dalam botol. Kendala yang dihadapi para pengrajin adalah kualitas bibit tidak stabil, produksi mudah menurun

dan persentase kegagalan tinggi.

Hasil pengamatan dan penelitian terhadap bibit yang digunakan oleh produsen menunjukkan bahwa bibit tersebut tidak murni mengandung bakteri selulosa. Beberapa bakteri yang dapat menghasilkan selulosa, di antaranya dari genus *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, dan *Sarcina* (Ross dkk., 1991). Umumnya bakteri yang digunakan untuk membuat nata de coco adalah bakteri *A. xylinum*, bakteri tersebut termasuk bakteri gram negatif, aerob, dan dapat mensintesis selulosa secara ekstraseluler (Schramm dan Hestrin, 1954). Berbagai aspek telah dipelajari untuk meningkatkan produksi selulosa yaitu skrining terhadap agitasi kultur (Toyosaki dkk., 1995), kultivasi dalam *stirred fermenter* (Krusong dkk., 1998; Yang dkk., 1998), kultivasi dalam *air-lift reactor* (Chao dkk., 1997), dan penambahan bahan pembawa mikroaerofilik (Krusong dkk., 1998, 1999).

Beberapa penelitian telah dilakukan di Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI terhadap *Acetobacter* sp. RMG-2, *Acetobacter* sp. EMN-1 dan *A. xylinum* sebagai inokulum cair nata de coco untuk produksi selulosa (Melliawati dkk. 1998, 1999, 2000, 2001a, 2001b, 2003). Penelitian yang telah dilakukan Melliawati dkk. (2001b) termasuk membuat inokulum pasta menggunakan bahan pembawa carboxy methyl cellulose. Penelitian ini bertujuan untuk menguji beberapa bahan pembawa untuk meningkatkan kualitas inokulum pasta nata de coco.

### BAHAN DAN METODE

#### Alat dan bahan

#### \* Alamat korespondensi:

Jl. Raya Bogor Km.46 Cibinong 16911  
Tel. +62-21-8754587; Fax. +62-21-8754588  
e-mail: ruthmell2000@yahoo.com, ruth.melliawati@lipi.go.id

Peralatan yang digunakan adalah botol skot ukuran 250 mL yang diisi medium 100 mL, baki plastik transparan dengan ukuran 25x40x7 cm<sup>3</sup> yang diisi medium 1000 mL. Medium untuk pembiakan *Acetobacter* digunakan medium HB (*Hassid and Backer Medium*) dalam Jusuf dan Suwanto (1982) yang terdiri dari glukosa 50 g, ekstrak yeast 1,25 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,50 g, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,30 g, MgSO<sub>4</sub> 7 H<sub>2</sub>O 0,1 g air kelapa 500 mL dan medium GAA terdiri dari glukosa 3 g, ZA 5 g dan cuka 5 mL.

#### Cara kerja

##### Seleksi bahan pembawa

Bahan pembawa yang digunakan dalam penelitian ini adalah pati sagu, agar, bubur bioselulosa dan CMC. Bahan ini mempunyai daya ikat atau menjadi kental apabila dilarutkan dalam air hangat/panas, kecuali bubur bioselulosa. Bahan tersebut dilarutkan dengan akudes dan dibuat beberapa konsentrasi (4%, 5%, 7,5%, 10%, 12% dan 15%) untuk mendapatkan kekentalan yang diinginkan, kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C, 1 atm selama 15 menit. Dipelajari perbandingan yang tepat dalam pencampuran antara bahan pembawa dengan kultur *Acetobacter* sp RMG-2 dan *A. xylinum*, sehingga mendapatkan inokulum nata de coco dalam bentuk pasta.

##### Kultivasi bakteri *Acetobacter*

*Acetobacter* sp. RMG-2 dan *A. xylinum* masing masing diinokulasikan pada dua macam medium (medium HB dan GAA), disimpan dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang. Kultur bakteri dipanen setelah 3 hari. Pertumbuhan bakteri terlihat dengan terbentuknya bioselulosa.

##### Membuat inokulum pasta

Kultur bakteri yang sudah dipanen dicampurkan ke dalam bahan pembawa steril yang sudah diketahui konsentrasinya, kemudian diaduk sampai homogen sehingga campuran tersebut berbentuk pasta. Selanjutnya dikemas dalam kemasan plastik tebal 50 g/sachet dan disimpan pada suhu 4° C. Inokulum siap diuji.

##### Pengujian inokulum

Inokulum diuji dengan cara membuka kemasan, ditumbuhkan dalam medium padat melalui pengenceran bertingkat untuk melihat populasi bakteri tersebut dengan cara menghitung jumlah sel yang hidup. Inokulum pasta diuji juga untuk mengetahui kemampuannya dalam memproduksi bioselulosa menggunakan botol skott berisi 100 mL medium dan dalam baki berisi 1000 mL medium masing-masing dilakukan dua ulangan, selanjutnya diinkubasikan selama 7 hari. Pemanenan dilakukan untuk melihat tebal dan berat bioselulosa yang terbentuk. Dilanjutkan pengeringan terhadap bioselulosa setelah dilakukan pencucian dan perendaman lebih dulu dalam larutan NaOH 0,1% selama 24 jam. Pengeringan dilakukan menggunakan oven 60-70°C selama 2-3 hari, lalu ditimbang untuk mengetahui berat kering bioselulosa tersebut.

#### Analisis data

Data penelitian dianalisis dengan Anova yang dilanjutkan dengan metode DMRT menggunakan perangkat lunak SPSS Versi 11.0.

Dari beberapa konsentrasi kekentalan yang dicoba terhadap keempat bahan pembawa, maka konsentrasi kekentalan untuk pati sagu yang paling baik adalah 7,5 dan 10%, sedang untuk agar dan CMC menggunakan konsentrasi 4%, sementara konsentrasi untuk bubur bioselulosa (produk akhir perbandingan antara bubur bioselulosa: inokulum = 2: 1).

##### Tekstur inokulum pasta

Inokulum pasta yang dibuat menggunakan 4 macam bahan pembawa menghasilkan 4 macam inokulum pasta dengan tekstur yang berbeda. Bahan pembawa CMC memperlihatkan tekstur yang lembut berbentuk pasta/jelly dan apabila disimpan pada suhu 4°C dalam waktu 1 minggu pasta berubah menjadi agak cair. Sementara bahan pembawa agar, tekstur kurang bagus karena agar tidak dapat larut dengan sempurna, sehingga antara inokulum dan bahan pembawa tidak dapat bersatu (terlihat kasar). Bahan pembawa pati sagu, memiliki tekstur cukup baik tetapi ikatan inokulum pasta terlalu lengket sehingga apabila diinokulasikan dalam medium cair, antara inokulum dengan medium tidak homogen. Pada bahan pembawa bubur bioselulosa, tekstur cukup baik tetapi tidak membentuk pasta seperti bahan pembawa CMC (inokulum semi padat) namun populasi bakteri cukup stabil berada dalam bubur bioselulosa dan tekstur inokulum pasta setelah melalui penyimpanan tidak mengalami perubahan yang berarti. Dengan demikian, bahan pembawa yang paling sesuai adalah CMC dan bubur bioselulosa.

##### Pengkajian bahan pembawa terhadap populasi sel bakteri

Hasil analisis data (Tabel 1) menunjukkan bahwa pengaruh bahan pembawa CMC terhadap populasi bakteri *A. xylinum* (16 minggu) berbeda nyata terhadap populasi bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 dan *A. xylinum* (3, 6 dan 10 minggu) dan bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (16 minggu), sedang pada bahan pembawa agar, populasi bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (10 dan 16 minggu) dan *A. xylinum* (16 minggu) tidak berbeda nyata. Pada bahan pembawa sagu, populasi bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (16 minggu) berbeda nyata terhadap populasi bakteri *A. xylinum* maupun *Acetobacter* sp. RMG-2 pada perlakuan tersebut. Pengaruh bahan pembawa bubur selulosa terhadap populasi bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (10 minggu) tidak berbeda nyata terhadap populasi bakteri *A. xylinum* (16 minggu). Dari analisis tersebut diketahui bahwa bahan pembawa sagu menghasilkan populasi tertinggi, tetapi tekstur hasil campuran bahan pembawa sagu dan bakteri (menjadi inokulum pasta) terlalu lengket, sehingga populasi bakteri di dalam bahan karier tidak homogen. Dengan demikian, sagu tidak direkomendasikan sebagai inokulum pasta.

**Tabel 1.** Populasi sel bakteri *Acetobacter xylinum* (AX) dan *Acetobacter* sp. RMG-2 (RMG-2) dalam 4 macam bahan pembawa.

Waktu/ minggu	Perlakuan Bakteri	Populasi bakteri dalam bahan pembawa			
		CMC	Agar	Sagu	Bubur bioselulosa
3	AX	350 d	300 b	300 cd	19,5 c
3	RMG-2	395 d	950 b	545 cd	895 bc
6	AX	86 e	870 b	13,5 d	2 c
6	RMG-2	960 c	950 b	785 c	620 c
10	AX	3315 b	1000 b	0 d	3,5 c
10	RMG-2	1030 c	4900 a	4450 b	6650 a
16	AX	4000 a	4000 ab	50 d	4250 ab
16	RMG-2	430 d	1430 ab	32050 a	595 c

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan nyata (5%) menurut DMRT; Angka rerata dalam  $10^5$ . Angka 0 = tidak diuji.

minggu). Pengaruhnya terhadap bioselulosa kering dari bakteri *A. xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 (6 minggu) berbeda nyata terhadap perlakuan yang lain.

**Tabel 2.** Produksi bioselulosa oleh *Acetobacter xylinum* (AX) dan *Acetobacter* sp. RMG-2 (RMG-2) dalam 100 mL medium (botol Scot)

Perlakuan		Berat bioselulosa dalam 100 mL medium (botol Scot) menggunakan inokulum dengan bahan pembawa							
Waktu/minggu	Bakteri	CMC		Agar		Sagu		Bubur bioselulosa	
		b.b	b.k	b.b	b.k	b.b	b.k	b.b	b.k
3	AX	24,55 d	0,40 bc	25,10 d	0,30 b	23,15 bc	0,35 a	27,30 ab	0,40 ab
3	RMG-2	39,15 a	0,35 bc	42,0 b	0,40 b	21,10 cde	0,35 a	31,30 a	0,50 ab
6	AX	32,75 c	1,10 a	19,65 e	0,45 b	25,50 b	0,40 a	18,50 c	0,25 b
6	RMG-2	35,15 ab	1,00 a	46,15 a	0,90 a	19,95 cde	0,20 a	21,15 bc	0,20 b
10	AX	29,20 c	0,30 c	19,90 e	0,30 b	29,20 a	0,35 a	27,85 ab	0,70 a
10	RMG-2	31,85 c	0,25 c	43,80 ab	0,40 b	19,55 de	0,20 a	31,30 a	0,60 ab
16	AX	19,70 e	0,50 b	26,40 d	0,35 b	22,55 bcd	0,45 a	25,10 abc	0,60 ab
16	RMG-2	22,30 de	0,40 bc	35,90 c	0,40 b	18,65 e	0,35 a	26,65 ab	0,50 ab

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan nyata (5%) menurut DMRT



**Gambar 1.** Inokulum pasta nata de coco dari bakteri *A. xylinum* pada bahan pembawa bubur bioselulosa (A) dan CMC (B)



**Gambar 2.** Inokulum pasta nata de coco dari *Acetobacter* sp. RMG-2 pada bahan pembawa bubur bioselulosa (A) dan CMC (B)

#### Uji inokulum pasta terhadap produksi bioselulosa

Analisis terhadap produksi bioselulosa (Tabel 2) memperlihatkan bahwa pengaruh bahan pembawa CMC menggunakan bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (3 dan 6 minggu) terhadap produksi bioselulosa basah tidak berbeda nyata, demikian juga terhadap bioselulosa kering *A. xylinum* dan *Acetobacter* sp. RMG-2 (6 minggu) tidak berbeda nyata. Pada bahan pembawa agar dengan bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (6 dan 10 minggu) tidak berbeda nyata terhadap produksi bioselulosa basah, sedangkan terhadap bioselulosa kering berbeda nyata (6 minggu). Pada bahan pembawa sagu menggunakan bakteri *A. xylinum* (10 minggu) berbeda nyata terhadap perlakuan yang lain tetapi tidak berbeda nyata terhadap berat kering. Pada bahan pembawa bubur selulosa dengan bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (3, 10 dan 16 minggu) tidak berbeda nyata terhadap produksi bioselulosa basah, demikian juga dengan bakteri *A. xylinum* (10 dan 16

ada di dalam medium.

**Tabel 3.** Populasi sel bakteri *Acetobacter xylinum* (AX) dan *Acetobacter* sp. RMG-2 (RMG-2) pada dua macambahan karier.

Perlakuan		Populasi sel bakteri dalam bahan pembawa	
Waktu/minggu	Bakteri	Bubur selulosa	CMC
3	AX	0 b	27500 a
3	RMG-2	0 b	6700 b
5	AX	32950 a	0 b
5	RMG-2	4500 b	5650 b
7	AX	0 b	7,5 b
7	RMG-2	2800 b	975 b
9	AX	8 b	8 b
9	RMG-2	2345 b	400 b
11	AX	31 b	31 b
11	RMG-2	645 b	645 b
13	AX	5 b	7 b
13	RMG-2	4780 b	850 b

#### Inokulum pasta terpilih dan uji ulang terhadap populasi dan produksi bioselulosa

Dengan melihat hasil populasi sel dan tekstur inokulum pasta, maka dua inokulum pasta terpilih (bahan pembawa CMC dan bubur bioselulosa) diteliti lebih lanjut dan kultur bakteri dipersiapkan pada medium HB. Inokulum pasta dibuat kembali menggunakan kedua bahan pembawa tersebut dan dikemas 50 g/sachet. Gambar 1 dan 2 memperlihatkan kemasan inokulum pasta yang dibuat dari bahan pembawa CMC dan bubur bioselulosa.

Pengaruh dua bahan pembawa terhadap kedua bakteri diperlihatkan pada Tabel 3. Pengaruh bahan pembawa terhadap populasi kedua bakteri dengan perlakuan lama penyimpanan inokulum pasta, menghasilkan beda nyata terhadap populasi *A. xylinum* (5 minggu) baik pada bubur selulosa maupun pada CMC (3 minggu), sementara itu jumlah populasi bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 pada kedua bahan pembawa tersebut ada di bawah jumlah populasi *A. xylinum*, namun keduanya mampu menyimpan bakteri dengan aman dan tidak kehilangan potensinya dalam membentuk bioselulosa. Populasi bakteri dan produksi bioselulosa berhubungan erat dengan medium dan kemampuan bakteri mensintesis bahan nutrisi yang

15	AX	13 b	12950 b
15	RMG-2	775 b	1790 b

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan nyata (5%) menurut DMRT. Angka rerata dalam  $10^5$ . Angka 0 = tidak diuji.

**Tabel 4.** Produksi bioselulosa oleh *Acetobacter xylinum* (AX) dan *Acetobacter* sp. RMG-2 (RMG-2) dalam 1000 mL medium

Perlakuan	Waktu/ minggu	Bahan pembawa	Berat bioselulosa menggunakan bakteri			
			<i>Acetobacter xylinum</i>		<i>Acetobacter</i> sp. RMG-2	
			b.b	b.k	b.b	b.k
1		BS	700 ab	8,40 cd	660 de	10,75 b
1		CMC	725 a	9,45 bc	545 f	7,20 def
3		B S	725 a	9,95 bc	685 cde	9,45 bc
3		CMC	575 c	5,90 f	800 ab	9,05 bcd
5		B S	640 bc	7,0 ef	840 a	9,45 bc
5		CMC	0 e	0 g	805 ab	6,65 efg
8		B S	650 b	7,0 f	770 ab	5,0 g
8		CMC	0 e	0 g	725 bcd	14,45 a
9		B S	770 a	10,40 b	690 cde	10,45 b
9		CMC	640 bc	7,70 de	770 ab	9,75 b
11		B S	645 bc	7,67 de	750 bc	9,40 bc
11		CMC	650 b	7,75 de	775 ab	10,65 b
13		B S	700 ab	9,20 bc	790 ab	9,05 bcd
13		CMC	700 ab	12,50 a	775 ab	6,60 efg
15		B S	740 a	13,25 a	775 ab	5,85 fg
15		CMC	500 d	8,35 cd	630 e	7,80 cde

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda dalam satu kolom menunjukkan perbedaan nyata (5%) menurut DMRT. Angka 0 = tidak diuji.

## KESIMPULAN

CMC dan bubuk selulosa merupakan bahan pembawa terbaik yang dapat digunakan untuk menyimpan bakteri dengan kondisi stabil dan mampu memproduksi bioselulosa. Populasi sel bakteri *A. xylinum* pada inokulum pasta bahan pembawa CMC mencapai  $1,28 \times 10^9$  cfu/mL, dan pada bubuk selulosa  $1,6 \times 10^6$  cfu/mL setelah penyimpanan 15 minggu, dengan berat bioselulosa masing-masing sebesar 640 g/L dan 770 g/L medium. Sedangkan untuk bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 pada bahan pembawa CMC populasi sel diperoleh  $1,79 \times 10^8$  cfu/mL, pada bubuk selulosa  $7,75 \times 10^7$  cfu/mL dengan berat bioselulosa masing-masing 630 g/L dan 775 g/L medium.

Pengaruh bahan pembawa bubuk selulosa dengan bakteri *A. xylinum* (1, 3, 9, 13, 15 minggu) terhadap produksi bioselulosa basah tidak berbeda nyata, demikian juga terhadap bioselulosa kering yang menggunakan bahan pembawa CMC (3 minggu) dan bubuk selulosa (15 minggu). Pengaruh bahan pembawa CMC dengan bakteri *Acetobacter* sp. RMG-2 (3, 5, 9, 11, 13, 15 minggu) tidak berbeda nyata, sedangkan terhadap bioselulosa kering hanya bahan pembawa CMC (8 minggu) yang berbeda nyata.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Pimpinan Proyek Penelitian Bioteknologi yang telah memberikan dana dan kesempatan dalam melakukan penelitian. Ucapan terima kasih disampaikan pula kepada Nuryati dan Nuriyannah serta semua pihak yang membantu kelancaran penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Cannon, E. and S.M. Anderson. 1991. Biogenesis of bacterial cellulose. *Critical Reviews in Microbiology* 17: 435-447.
- Chao, Y.P., Y. Sugano, T. Kaoda, F. Yoshinaga, and M. Shoda. 1997. Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* with an air-lift reactor. *Biotechnology Techniques* 11: 829-832.
- Fontana, J.D., A.M. Souza, C.K. Fontana, I.L. Torriani, J.C. Moreschi, B.J. Gallotti, S.J. Souza, G.P. Narcisco, J.A. Bichara, and L.F.X. Farah. 1990. *Acetobacter* cellulose pellicle as a temporary skin substitute. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 24-25: 253-264.
- Johnson, D.C. and A.R. Winslow. 1990. Bacterial cellulose has potential application as new paper coating. *Pulp and Paper News*: 105-107.
- Krusong, W., N. Phapinyo and T. Yoshida. 1998. Counteraction of negative effect on cellulose production in agitated submerged culture of *Acetobacter xylinum*. *Proceedings of International Conference on Asian Network on Microbiology Researches*. Gajah Mada University, Yogyakarta, 23-25 Februar 1998.
- Krusong, W., N. Phapinyo, M. Tagaki, M. Nakajima, and T. Yoshida. 1999. Comparison of cellulose porous beads and cellulose powder as microaerophilic carrier for bacterial cellulose production in continuous stirred tank reactor. *Biotechnology for Sustainable Utilization of Biological Resources in the Tropics* 13: 169-179.
- Melliawati, R., N.R. Prayitno, dan E. Sukara. 1998. Pengaruh cara sterilisasi dan jenis air kelapa terhadap produksi bioselulosa oleh *Acetobacter* sp. EMN-1. *Prosiding Simposium Tahunan Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia*. Bandar Lampung, Desember 1997.
- Melliawati, R., N.R. Prayitno, Ardiansyah, Rohmatussolihat, dan K. Sufiantini. 1999. Pengaruh campuran ekstrak buah buahan dan air kelapa terhadap biomasa sel *Acetobacter* sp. EMN-1 dan produk selulosa. *Prosiding Ekspose Hasil Penelitian Bioteknologi Pertanian*. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Departemen Pertanian, Jakarta, 31 Agustus-1 September 1999.
- Melliawati, R., F. Octavina dan Masrih. 2000. Pengaruh derajat keasaman media terhadap pertumbuhan sel dan selulosa oleh bakteri *Acetobacter* sp. EMN-1 dan RMG-2. *Prosiding seminar Hasil Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi III*, Cibinong, 7-9 Maret 2000.
- Melliawati, R., W.Y. Komara, E. Sukara. 2001a. Fermentation process for the production of *Acetobacter* sp. EMN-1 biomass. JSPS-NCRT/DOST/VCC Meeting and seminar on BioThailand 2001 from research to market. *The First International Biotechnology Trade Exhibition & Conference*. JSPS-NCRT/DOST/LIPI/VCC, Bangkok, 7-10 November 2001.
- Melliawati, R., E. Sukara, F. Octavina. 2001b. *Inokulum Pasta Nata de Coco*. Paten Indonesia no. P00200101012.
- Melliawati, R., S. Kurniawati, F. Octavina, 2003. Kultivasi *Acetobacter* sp. RMG-2 pada beberapa sumber karbon dan nitrogen serta pengaruhnya terhadap produksi selulosa. *Jurnal Biosfera* 2 (2): 43-49.
- Ross, P., R. Mayer, and M. Benziman. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiological Reviews*: 35-58.
- Schramm, M., and S. Hestrin. 1954. Factor affecting production of cellulose at the air/liquid interface of culture of *Acetobacter xylinum*. *Journal Genetic Microbiology* 11: 123-129.
- Takai, M., F. Nonomura, T. Inukai, M. Fujiwara, and J. Hayashi. 1991. Filtration and permeation characteristics of bacterial cellulose composite. *Sen'i Kaghaishi* 47: 119-129.
- Toyosaki, H., T. Naritomi, A. Seto, M. Matsuoka, T. Tsuchida, and F. Yoshinaga. 1995. Screenin of bacterial cellulose-producing *Acetobacter* strains suitable for agitated culture. *Bioscience, Biotechnology and Biochemicemistry* 59: 1498-1502.
- Yang, Y.K., S.H. Park, J.W. Hwang, Y.R. Pyun, and Y.S. Kim. 1998. Cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 under agitated condition. *Journal Fermentation Bioengineering* 85: 312-317.
- Jusuf, A. dan A. Suwanto. 1982. *Mempelajari Pembuatan Nata de Coco di CV Tunas Sari, Bogor*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, IPB.