

## Penghasilan Selulosa Bakteria daripada Kordial Minuman Tamat Tempoh dan Potensi Penggunaannya sebagai Gel Selulosa Anti-Pemerangan (Production of Bacterial Cellulose from Expired Cordial Beverages and Their Potential Use as Anti-Bright Cellulose Gel)

FABIANA FRANCIS<sup>1</sup>, ZUR AIN AQILLAH BINTI ZAKI<sup>1</sup> & NURUL AQILAH MOHD ZAINI<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

<sup>2</sup>Innovation Centre for Confectionery Technology (MANIS), Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

Diserahkan: 3 September 2021/Diterima: 7 Oktober 2021

### ABSTRAK

Selulosa adalah polimer karbohidrat yang mudah diperolehi daripada sumber tumbuhan dan dihasilkan melalui proses fermentasi pelbagai jenis bakteria seperti *Komagataeibacter xylinus*. Walau bagaimanapun, selulosa bakteria mempunyai ketulenan dan kapasiti pegangan air yang lebih tinggi berbanding selulosa daripada sumber tumbuhan dan oleh itu, ia mempunyai potensi untuk digunakan sebagai gel selulosa aktif dalam industri makanan seperti gel anti-pemerangan. Minuman kordial yang telah tamat tempohnya merupakan media fermentasi yang baik bagi penghasilan selulosa bakteria kerana mengandungi kandungan gula yang tinggi dan sekaligus mengurangkan masalah pengurusan sisa minuman. Oleh itu, objektif kajian ini adalah untuk menghasilkan selulosa bakteria sebagai gel anti-pemerangan daripada minuman kordial yang telah tamat tempohnya dalam model jus epal segar. Tahap pertama kajian adalah membandingkan penghasilan selulosa bakteria daripada minuman kordial yang sudah tamat tempohnya tanpa dan dengan penambahan ekstrak yis. Hasil kajian menunjukkan minuman kordial dengan penambahan yis menghasilkan berat selulosa basah tertinggi iaitu 140 g/L, penurunan nilai pH sebanyak 1.72 dan penurunan kepekatan gula dan protein sebanyak 12.44 mg/mL dan 0.93 mg/mL selepas 14 hari fermentasi. Gel selulosa yang dihasilkan kemudiannya digunakan sebagai gel anti-pemerangan (penambahan 0.1% asid askorbik) pada peringkat kedua kajian ini. Hasil kajian menunjukkan bahawa indeks pemerangan dalam jus epal yang mengandungi gel selulosa anti-pemerangan telah berjaya mencegah pemerangan dalam jus epal segar (15.01) berbanding dengan indeks pemerangan dalam jus epal kawalan (25.58). Kesimpulannya, selulosa bakteria dapat dihasilkan daripada minuman kordial yang telah tamat tempohnya dan berpotensi sebagai gel anti-pemerangan bagi mengurangkan pemerangan enzim dalam jus epal segar.

Kata kunci: Gel anti-pemerangan; *Komagataeibacter xylinus*; minuman kordial tamat tempoh; selulosa bakteria

### ABSTRACT

Cellulose is a carbohydrate polymer that is readily available from plant and produced by variety of bacteria such as *Komagataeibacter xylinus* through fermentation. However, bacterial cellulose has higher purity and water holding capacity than plant-based cellulose and can potentially be used as an active gel in food applications such as anti-browning gel. Expired cordial drinks could be an excellent fermentation medium for bacterial cellulose production due to its high sugar content and simultaneously mitigate wastewater issues. Therefore, the objective of this research was to produce bacterial cellulose as anti-browning gels from expired cordial drinks in fresh apple juice model system. The first stage of the study was to compare the production of bacterial cellulose from expired cordial drinks without and with the addition of yeast extract. Results of cordial with the addition of yeast extract showed the highest wet weight of cellulose with 140 g/L, decreased in pH value by 1.72, and decreased of sugar and protein concentrations by 12.44 mg/mL and 0.93 mg/mL, respectively, after 14 days. The produced cellulose pellicle was then used as anti-browning gel (addition of 0.1 % ascorbic acid) in the second stage of this study. Results showed that the browning index in apple

juice containing the anti-browning cellulose gel has successfully prevented browning in apple juice (15.01) compared to the browning index in a control apple juice (25.58). In conclusion, bacterial cellulose can be produced from expired cordial drinks and has potential as an anti-browning gel to reduce enzymatic browning in fresh apple juice.

Keywords: Anti-browning gel; bacterial cellulose; expired cordial drinks; *Komagataeibacter xylinus*

## PENGENALAN

Selulosa secara asasnya adalah polisakarida organik linear yang terdiri daripada rantaian panjang monosakarida glukosa dengan formula kimia  $(C_6H_{10}O_5)_n$  yang boleh diperolehi daripada tumbuhan dan dihasilkan oleh bakteria (Naomi et al. 2020). Selulosa bakteria boleh dihasilkan daripada beberapa genus bakteria seperti *Acetobacter*, *Azotobacter*, *Komagataeibacter*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Salmonella* dan *Alcaligenes*. *Komagataeibacter xylinus* (sebelum ini dikenali sebagai *Acetobacter xylinum* dan *Gluconacetobacter xylinus*) adalah sejenis bakteria aerobik Gram-negatif yang sering digunakan bagi menghasilkan selulosa bakteria kerana sistem penghasilannya yang cekap (Raghavendran et al. 2020). Dalam masa sejam, bakteria ini mampu menukar 108 molekul glukosa menjadi rantai selulosa (Betlej et al. 2021). Selain itu, *K. xylinus* juga dapat hidup dengan baik di bawah keadaan ekstrem seperti kepekatan gula yang tinggi bagi menghasilkan selulosa bakteria. Hal ini telah menarik minat penyelidik daripada pelbagai bidang untuk mengkaji biosintesis selulosa untuk digunakan dalam pelbagai aplikasi (Quijano 2017).

Selulosa daripada bakteria terdiri daripada mikrofibril yang lebih tulen berbanding selulosa daripada tumbuhan kerana bebas daripada kandungan lignin dan hemiselulosa. Mikrofibril ini disusun dalam struktur jaringan 3D yang membentuk geometri berliang dan mempunyai kekuatan mekanikal yang tinggi (Betlej et al. 2021). Selulosa bakteria juga mempunyai kapasiti kristal (80-90%), kapasiti penyerapan air dan darjah polimeran (sehingga 8000 dp) yang lebih tinggi berbanding selulosa tumbuhan. Ciri-ciri ini, bersama biokompatibiliti, menjadikan selulosa bakteria sebagai bahan yang menarik untuk dieksplorasi dalam pelbagai bidang, terutamanya yang berkaitan dengan industri makanan, kosmetik, bioperubatan dan bioteknologi (Moniri et al. 2017).

Penghasilan selulosa bakteria oleh *K. xylinus* menggunakan sumber karbon glukosa adalah berdasarkan mekanisma berikut: 1) fosforilasi glukosa oleh glukokinase menjadi glukosa-6-fosfat, 2) isomerisasi glukosa-6-fosfat menjadi glukosa-1-fosfat

oleh fosfoglukomutase, 3) penukaran glukosa-1-fosfat menjadi glukosa difosfat uridin (UDP-glukosa) oleh UDP-glukosa pirofosforilase, 4) sintesis selulosa daripada UDP-glukosa oleh selulosa sintase. UDP-glukosa adalah prekursor untuk menghasilkan selulosa dan memainkan peranan penting dalam sintesis selulosa. Aktiviti UDPase adalah kira-kira 100 kali lebih aktif dalam bakteria yang menghasilkan selulosa berbanding daripada bakteria yang tidak menghasilkan selulosa (Sheltami et al. 2012).

Antara potensi penggunaan selulosa bakteria dalam industri makanan adalah sebagai pembawa (*carrier*) aditif makanan. Dengan kapasiti pegangan air yang tinggi, selulosa bakteria mampu menyerap bahan aktif seperti agen anti-pemerangan, anti-mikrobial dan anti-oksida. Matriks serat selulosa bakteria yang padat terbentuk melalui ikatan inter dan intra-kimia yang kuat terutamanya ikatan hidrogen di antara rangkaian selulosa. Tahap ikatan hidrogen yang tinggi ini juga menghasilkan rongga yang mempunyai cas ion terbentuk di dalam selulosa. Oleh hal demikian, agen aktif seperti agen anti-pemerangan yang mempunyai cas ion dapat diserap ke dalam rangkaian selulosa bakteria dan kemudiannya akan berfungsi sebagai satu mekanisme pelepasan terkawal apabila dimasukkan ke dalam larutan akueus yang lain (Swingler et al. 2021). Selulosa bakteria dengan penambahan agen anti-pemerangan berbeza berbanding agen anti-pemerangan yang biasa kerana gel selulosa aktif tersebut mampu melepaskan agen anti-pemerangan secara berperingkat dan berterusan untuk jangka masa yang lebih lama. Penambahan agen anti-pemerangan kepada selulosa bakteria berpotensi mengatasi masalah utama yang berlaku pada jus buah-buahan segar iaitu pemerangan enzim (Ali et al. 2014). Pemerangan enzim berlaku disebabkan oleh pengoksidaan sebatian fenolik dalam jus buah-buahan oleh enzim polifenol oksidase (PPO) yang menghasilkan pigmen perang apabila terdedah kepada udara sekeliling yang akhirnya menurunkan kualiti dan nilai pemakanan jus tersebut (Mansor et al. 2020). Pemerangan enzim juga menyebabkan kerugian ekonomi yang besar apabila produk tidak dapat dijual kepada pengguna (Al Qadr Imad Wan-Mohtar et al. 2021). Jus epal segar

terutamanya, sering mengalami kerugian ekonomi yang signifikan kerana berlaku penurunan kualiti akibat daripada pemerangan enzim (Kaanane & Labuza 2012).

Oleh sebab itu, kajian ini dijalankan bagi mengkaji potensi selulosa bakteria sebagai gel selulosa anti-pemerangan. Walau bagaimanapun, penghasilan selulosa bakteria melibatkan kos yang tinggi disebabkan oleh penggunaan media fermentasi komersial yang mahal serta penggunaan glukosa daripada sumber berasaskan makanan seperti kentang, jagung dan gandum sebagai substrat (Alabbosh et al. 2021). Oleh itu, untuk mengurangkan kos pengeluaran, media fermentasi yang mudah diperolehi, mempunyai sumber karbon seperti glukosa atau sukrosa yang tinggi, sumber yang tidak terhad dan murah perlu digunakan bagi menghasilkan selulosa bakteria (Revin et al. 2018). Sisa minuman seperti kordial minuman yang telah melepasi tarikh tamat tempoh mempunyai potensi sebagai media fermentasi kerana mengandungi kandungan gula yang tinggi, di samping dapat mengatasi masalah pembaziran sisa makanan atau minuman serta menerapkan strategi sisa sifar (*zero waste*) untuk mencapai pemulihan sumber yang optimum daripada sisa sampah (Garg 2019; Rodzi et al. 2018).

Justeru, objektif kajian ini adalah untuk menghasilkan selulosa bakteria daripada minuman manis komersial yang telah tamat tempoh dan mengenal pasti potensi selulosa bakteria sebagai gel selulosa aktif dengan penambahan agen anti-pemerangan serta menilai kesan penambahan gel selulosa aktif kepada kadar pemerangan jus buah epal.

## BAHAN DAN KAEDAH

### BAHAN MENTAH

Sampel yang digunakan dalam kajian ini adalah kordial minuman komersial (perisa oren) yang diperolehi daripada kedai runcit di Kajang, Selangor. Bahan-bahan yang terdapat di dalam kordial minuman adalah gula, jus oren pekat, perisa, asid sitrik, penstabil, natrium benzoat, natrium metabisulfit, pewarna (tartrazine). Kordial minuman yang digunakan telah 3 bulan melepasi tarikh luputnya semasa kajian dijalankan (Tarikh luput: September 2019).

### STRAIN *K. xylinus*

Strain *K. xylinus* yang dibiakkan di dalam air kelapa telah diperolehi daripada Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI), Serdang, Selangor.

## PENYEDIAAN INOKULUM

Sebanyak 5 mL strain *K. xylinus* daripada air kelapa diinokulasi ke dalam 45 mL kaldu De Man, Rogosa, Sharpe (MRS) (1:10) yang telah disteril dan diubah nilai pH kepada 6.0 bagi pertumbuhan optimum. Kultur *K. xylinus* kemudian dieram selama 48 jam pada suhu 30 °C dalam keadaan statik. Pemeriksaan dijalankan setiap hari selama 3 hari untuk memastikan bahawa selulosa bakteria hidup dengan baik dengan meneliti lapisan selulosa yang terhasil di permukaan media.

## MEDIA FERMENTASI BERASASKAN MINUMAN KORDIAL KOMERSIAL YANG TELAH TAMAT TEMPOH

Minuman kordial yang tamat tempoh telah dilarutkan dalam air suling pada faktor pencairan 1:10 di dalam botol Schott dan digunakan sebagai media fermentasi bagi menghasilkan selulosa bakteria. Kepekatan sukrosa dalam media fermentasi berasaskan minuman kordial yang telah tamat tempoh ditetapkan pada 20 mg/mL. Bagi membandingkan kesan penambahan ekstrak yis ke atas penghasilan selulosa bakteria, sebanyak 10 mg ekstrak yis (20 mg/L) ditambahkan pada media fermentasi minuman kordial yang lain. Kedua-dua sampel kemudian diautoklafkan pada suhu 121 °C selama 15 min.

## PENGHASILAN SELULOSA BAKTERIA

Sebanyak 1 mL inokulum *K. xylinus* diinokulasi secara aseptik ke dalam botol universal yang masing-masing mengandungi 9 mL (10% v/v) kordial dan campuran kordial dan ekstrak yis steril. Kedua-dua sampel tersebut ditutup dengan kain kasa dan kemudiannya difermentasi selama 14 hari pada suhu 30 °C (Memmert Inkubator 126 Ketuhar INB200, Germany) dalam keadaan statik. Kandungan sukrosa, protein, pH dan berat basah selulosa selulosa bakteria diperiksa setiap 48 jam bagi mendapatkan jumlah hari yang paling optimum untuk menghasilkan selulosa bakteria. Lapisan selulosa bakteria yang terbentuk diambil dan dibilas dengan air suling dan kemudian dirawat dengan 0.1M NaOH untuk mendapatkan selulosa bakteria yang tulen. Selulosa bakteria yang tulen itu kemudiannya diberikan tekanan mekanikal selama 5 min untuk memerah keluar sebanyak mungkin cecair yang terdapat di dalam struktur selulosa.

## PENENTUAN KANDUNGAN SUKROSA (KAEDAH FENOL-ASID SULFURIK)

Kandungan sukrosa di dalam sampel minuman kordial ditentukan dengan menggunakan kaedah fenol-asid

sulfurik mengikut Rasouli et al. (2014). Sebanyak 200  $\mu\text{L}$  sampel dicampurkan dengan 0.2 mL larutan fenol 5% dan 1.0 mL asid sulfurik pekat di dalam tabung uji dan dibiarkan selama 10 min. Selepas itu, tabung uji digoncang untuk memastikan campuran sekata dan diletakkan di dalam rendaman air pada suhu 27 °C selama 20 min. Kemudian, pemeriksaan penyerapan dibaca pada 490 nm dengan menggunakan spektrofotometer (Innova<sup>TM</sup> 4200 New Brunswick Scientific, USA) (Masuko et al. 2005). Untuk sampel kawalan, langkah-langkah yang dinyatakan di atas diulang dengan menggantikan sampel dengan air suling.

#### PENENTUAN KANDUNGAN PROTEIN TERLARUT (BRADFORD)

Sebanyak 250  $\mu\text{L}$  sampel ditambah pada 2.5 mL reagen Bradford dan dikacau dengan menggunakan vortex (XH-D Vorteks Pencampur, China) sebelum diinkubasi pada suhu bilik selama sekurang-kurangnya 15 min. Kemudian, penyerapan sampel diukur pada 595 nm (Meahre et al. 2018). Keluk piawai protein diperoleh dengan menggunakan serum bovin albumin (BSA) sebagai protein rujukan.

#### PENENTUAN KAPASITI PEGANGAN AIR

Kapasiti pegangan air selulosa bakteria ditentukan dengan menggunakan kaedah Zhao et al. (2018) dan dihitung berdasarkan formula di bawah:

$$\text{Kapasiti pegangan air} = \frac{\text{Berat akhir} - \text{Berat awal}}{\text{Berat akhir}} \times 100\%$$

#### PENGHASILAN GEL SELULOSA DENGAN CIRI ANTI-PEMERANGAN

Media fermentasi yang menghasilkan selulosa bakteria yang tertinggi di peringkat pertama kajian digunakan dalam kajian peringkat ini. Gel selulosa anti-pemerangan dihasilkan dengan merendamkan selulosa yang telah diperah (2.8 cm) ke dalam 50 mL 0.1% larutan asid askorbik selama 72 jam. Asid askorbik diserapkan ke dalam gel selulosa bakteria melalui mekanisma resapan ringkas kerana perbezaan kepekatan asid askorbik antara gel selulosa dan larutan asid askorbik. Kemudian, gel selulosa dengan agen anti-pemerangan ditimbang untuk mengetahui kapasiti pegangan asid askorbik (berat akhir).

#### PENYEDIAAN MODEL JUS EPAL SEGAR

Jus epal segar telah dihasilkan dengan memerah 2 biji epal merah (*Honey crisp*) yang dibeli dari pasar

raya Giant di Ampang, Selangor dengan menggunakan pengisar (Philips HR2056/90 1 L Pengisar, Netherlands). Jus epal ditapis sebelum digunakan sebagai model kajian anti-pemerangan.

#### UJIAN ANTI-PEMERANGAN ENZIM

Gel selulosa yang diserapkan dengan asid askorbik kemudian dimasukkan ke dalam 100 mL jus epal yang segar dan dibiarkan pada suhu bilik (31 °C). Sampel kawalan juga disediakan iaitu 100 mL jus epal segar tanpa penambahan gel selulosa aktif. Pemantauan dilakukan setiap 20 min selama 3 jam untuk memeriksa perubahan warna jus epal menggunakan kolorimeter (Orion AQ3700 Kolorimeter, USA) yang telah dikalibrasi. Sebanyak 2 replikasi dijalankan dan nilai purata  $L^*$ ,  $a^*$  dan  $b^*$  direkodkan. Indeks pemerangan turut dikaji dengan menggunakan formulasi:

$$\text{Indeks pemerangan (IP)} = \frac{100(\times - 0.31)}{0.17}$$

dengan  $\times = (a^* + 1.75L^*) / (5.645L^* + a^* - 0.3012b^*)$ .

#### CIRI MORFOLOGI SELULOSA BAKTERIA

Gambaran morfologi permukaan selulosa bakteria (dengan 0.1% asid askorbik) yang dihasilkan daripada kordial tamat tempoh dikaji dengan menggunakan Mikroskop Imbasan Elektron (Zeiss SUPRA 55-VP FEGSEM, Jerman). Sampel selulosa bakteria dilekatkan pada pita karbon di atas puntung aluminium dan selepas itu disalutkan dengan emas-platidum melalui Biorad SC500 Pensalut Percik (Quorum Teknologi Ltd., United Kingdom). Julat kuasa pembesaran yang digunakan adalah 15000x (El et al. 2012).

#### HASIL DAN PERBINCANGAN

##### PENGHASILAN SELULOSA BAKTERIA DARIPADA KORDIAL MINUMAN TAMAT TEMPOH

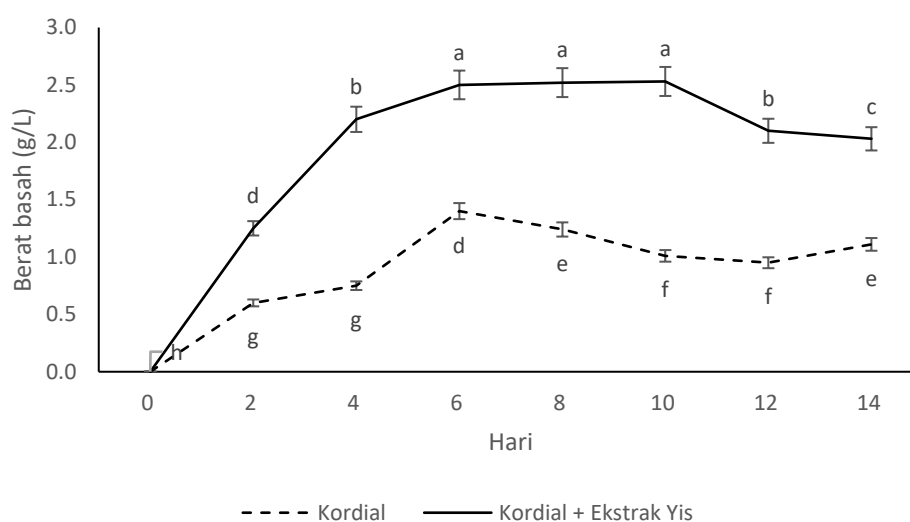
Penghasilan selulosa bakteria daripada sisa minuman iaitu kordial minuman yang telah tamat tempoh telah dikaji dalam kajian ini. Kesan penambahan nutrien tambahan seperti ekstrak yis dalam media fermentasi berasaskan sisa minuman ini turut diperhatikan. Keputusan menunjukkan bahawa di dalam kordial minuman sahaja (tanpa ekstrak yis), terdapat peningkatan penghasilan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) bagi berat basah selulosa bakteria antara hari 0 hingga ke hari 14 fermentasi (Rajah 1). Berat basah selulosa bakteria yang tertinggi adalah pada hari ke-6 fermentasi iaitu sebanyak 140 g/L ( $p < 0.05$ ) kerana sukrosa di dalam

sampel kordial telah digunakan sebagai sumber karbon untuk penghasilan selulosa (Betlej et al. 2021). Dari hari ke-6 hingga ke hari 12 fermentasi pula, terdapat penurunan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) pada berat basah bakteria selulosa yang terhasil daripada 140 g/L ke 95 g/L. Hal ini mungkin disebabkan oleh kejutan asid (*acid shock*) hasil daripada pH rendah, yang menghalang pertumbuhan selulosa bakteria (Sreeramulu et al. 2000). Kajian terdahulu menunjukkan bahawa pertumbuhan *A. xylinum* 0416 dalam medium fermentasi menurun sekitar 30% ketika pH turun daripada 5.05 ke 3.56. Walaupun *A. xylinum* 0416 adalah bakteria asidofilik, kajian menunjukkan bahawa persekitaran yang terlalu berasid (di bawah pH 4.0) dapat merencat pertumbuhan bakteria dan menghentikan penghasilan selulosa bakteria (Pa'e et al. 2011).

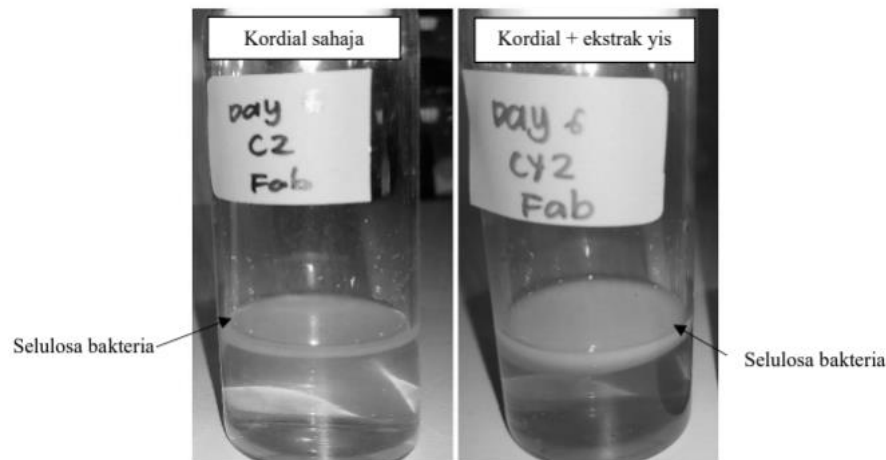
Pada asasnya dapat dilihat bahawa bakteria selulosa hidup dengan baik di dalam sampel kordial yang telah tamat tempohnya. Hal ini kerana, Goh et al. (2012) mendapati bahawa sukrosa adalah substrat terbaik untuk menghasilkan selulosa bakteria yang tertinggi diikuti oleh glukosa, xilosa dan laktosa oleh *Acetobacter* sp. 4B-2. Gabungan gula dalam sukrosa seperti glukosa dan fruktosa mempercepat proses fermentasi dan memaksimumkan penghasilan selulosa dalam masa yang lebih pendek (Li et al. 2020). Asid sitrik yang merupakan salah satu bahan yang terdapat di dalam sampel minuman kordial juga telah membantu dalam penghasilan selulosa bakteria. Kajian daripada Andritsou et al. (2018) menunjukkan bahawa menghasilkan selulosa bakteria oleh *Komagataeibacter sucrofermentans* DSM

15973 telah berjaya dilakukan melalui penggunaan media jus sitrus seperti jus oren. Dalam fermentasi statik seperti yang dijalankan dalam kajian ini, pelikel selulosa bakteria terbentuk antara permukaan cecair-udara kerana *K. xylinus* adalah bakteria aerobik yang menghasilkan selulosa hanya di sekitar permukaan media yang tinggi kandungan oksigen. Lapisan selulosa bakteria paling atas adalah lapisan paling baru kerana apabila selulosa bakteria mula terhasil, ia akan mengembang sehingga permukaan larutan ditutup sepenuhnya. Setelah itu baru selulosa bakteria akan tumbuh dengan lebih tebal (Rapdu et al. 2006).

Manakala untuk kordial minuman tamat tempoh dengan penambahan ekstrak yis, terdapat penambahan berat yang signifikan ( $p < 0.05$ ) daripada permulaan tempoh fermentasi (hari ke-0) kepada hari ke-6 fermentasi sebanyak 250 g/L, disebabkan pertambahan nutrien tambahan seperti protein (nitrogen), vitamin dan garam mineral untuk pertumbuhan bakteria. Son et al. (2009) telah mengkaji kesan penambahan sumber nitrogen yang berbeza ke atas penghasilan selulosa bakteria oleh *Acetobacter* sp. A9. Hasil kajiannya adalah berpadanan dengan kajian ini dengan penambahan ekstrak yis sebagai sumber nitrogen telah menghasilkan hampir dua kali ganda selulosa bakteria. Selain itu, kajian lain menunjukkan gabungan karbon kepada nitrogen (K/N) pada nisbah 6.31 mendorong sintesis selulosa bakteria oleh *A. xylinum* FNCC 0001 (Sari et al. 2021). Rajah 2 menunjukkan perbandingan imej selulosa bakteria yang terbentuk pada permukaan kordial minuman tamat tempoh (tanpa ekstrak yis) dan kordial minuman tamat tempoh dengan tambahan ekstrak yis.



RAJAH 1. Berat basah bakteria selulosa di dalam sampel kordial sahaja dan kordial+ ekstrak yis selama tempoh 14 hari fermentasi pada suhu 30 °C. <sup>a,b</sup> Abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) antara nilai min



RAJAH 2. Imej selulosa bakteria yang terbentuk pada permukaan media pada hari ke-6 fermentasi di dalam sampel kordial (kiri) dan sampel kordial dan ekstrak yis (kanan)

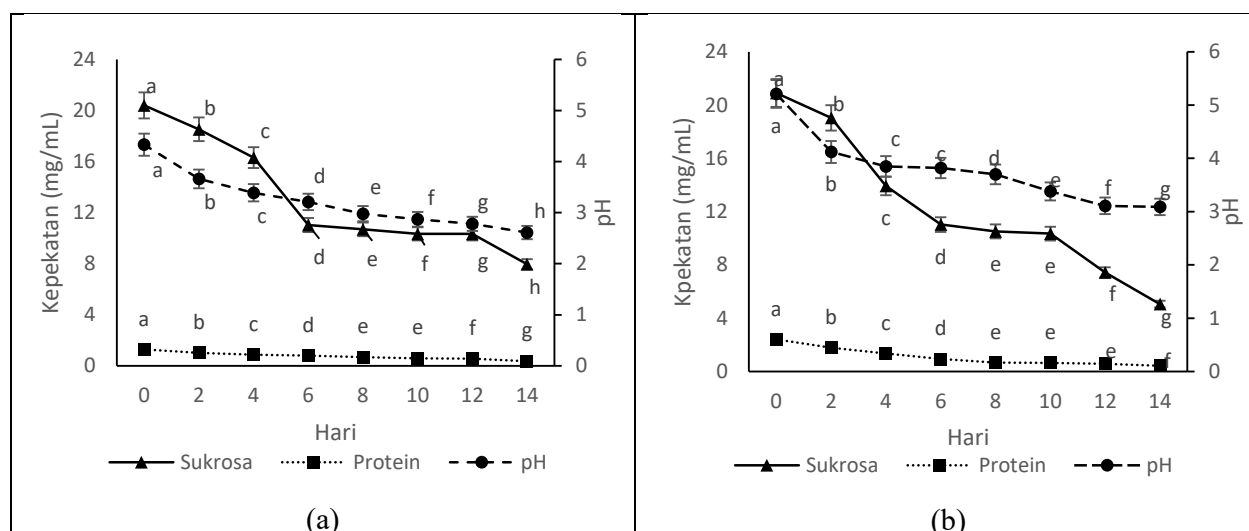
#### PERUBAHAN pH, KEPEKATAN SUKROSA DAN PROTEIN SEMASA PENGHASILAN SELULOSA BAKTERIA

Pada permulaan tempoh fermentasi (hari ke-0), nilai pH sampel kordial sahaja (pH 4.33) dan kordial dengan tambahan ekstrak yis (pH 5.21) berada di julat pH yang paling sesuai untuk penghasilan selulosa bakteria iaitu di antara pH 4.0-6.0. Julat pH ini digemari oleh *K. xylinus* kerana menggalakkan pertumbuhan yang optimum dan mempengaruhi pengambilan oksigen semasa fermentasi (Pa'e et al. 2011). Nilai pH untuk sampel kordial dengan tambahan ekstrak yis adalah lebih tinggi berbanding sampel kordial sahaja kerana ekstrak yis mempunyai pH yang lebih neutral (pH 6.5-7.0) dan ini telah meningkatkan nilai pH media fermentasi (San-Valero et al. 2020). Rajah 3 menunjukkan perubahan nilai pH, kepekatan sukrosa dan kepekatan protein dalam sampel kordial dan kordial dengan tambahan ekstrak yis sepanjang 14 hari fermentasi. Keputusan menunjukkan di dalam sampel kordial sahaja, terdapat penurunan nilai pH yang signifikan ( $p < 0.05$ ) daripada 4.33 pada hari 0 kepada 2.87 pada hari yang ke-14. Manakala, bagi sampel kordial dan ekstrak yis pula, terdapat penurunan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dalam nilai pH daripada 5.21 pada hari 0 kepada 2.78 pada hari yang ke-14.

Menurut Supian et al. (2021), kehadiran asid glukonat dalam medium kultur kerana bekalan glukosa yang berlebihan adalah faktor utama penurunan pH. Asid glukonat terbentuk sebagai produk sampingan semasa pertumbuhan bakteria melalui penggunaan glukosa daripada hidrolisis sukrosa di dalam sampel kordial

(Li et al. 2021). Hal ini akan menurunkan pH medium fermentasi dan secara tidak langsung mempengaruhi penghasilan selulosa. pH yang tidak terkawal bukan sahaja menjadikan medium kultur menjadi lebih berasid tetapi mengurangkan kadar pertumbuhan bakteria semasa fermentasi (Goh et al. 2012). Selain itu, pH media kultur juga menurun akibat daripada pengumpulan metabolit sekunder seperti asid asetik atau asid laktik yang dihasilkan semasa proses fermentasi (Supian et al. 2021). Berat basah selulosa bakteria yang terhasil juga dipengaruhi oleh nilai pH. Sebagai contoh, bagi sampel kordial sahaja, berat basah selulosa bakteria bertambah dari hari 0 sehingga hari ke-6 sahaja, dengan nilai pH pada hari ke-6 adalah 3.21. Selepas hari ke-6, berat basah selulosa mula menurun akibat daripada penurunan nilai pH seperti yang dilihat pada hari ke-8, ke-10 dan ke-12 dengan nilai pH adalah 2.98, 2.87 dan 2.78, masing-masing. Hal ini menunjukkan bahawa, *K. xylinus* tidak dapat bertumbuh dengan baik dalam keadaan pH yang rendah (kurang daripada pH 3.21) dan tidak dapat menghasilkan pelikel selulosa yang tebal. Satu kajian terdahulu menyokong penemuan ini dengan selulosa bakteria langsung tidak terhasil walaupun telah menjalani 20 hari fermentasi kerana nilai pH media adalah kurang daripada 3.5 (Jagannath et al. 2008).

Pada permulaan tempoh fermentasi, kepekatan sukrosa dalam sampel kordial sahaja adalah sebanyak 20.40 mg/mL. Kemudiannya, pada hari ke-14 pula, kepekatan sukrosa telah berkurang secara signifikan ( $p < 0.05$ ) kepada 7.96 mg/mL. Bagi sampel kordial dan



RAJAH 3. Nilai pH, kepekatan sukrosa dan kepekatan protein dalam sampel kordial (a) dan kordial dan ekstrak yis (b) sepanjang 14 hari fermentasi pada suhu 30 °C. <sup>a-h</sup> Abjad yang berbeza menunjukkan perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) antara nilai min

ekstrak yis pula, kepekatan sukrosa telah menurun secara signifikan ( $p < 0.05$ ) dari hari 0 sehingga hari ke-14, iaitu daripada 20.91 ke 5.06 mg/mL.

Hal ini kerana, sukrosa di dalam kedua-dua sampel ini digunakan sebagai sumber karbon oleh *K. xylinus* untuk menghasilkan selulosa. Sukrosa yang hadir dalam sampel kordial akan dihidrolisis dahulu kepada glukosa dan fruktosa, kemudian akan melalui kitaran pentosa-fosfat. Melalui kitaran ini, sintesis UDP-glukosa yang merupakan prekursor selulosa akan mengaktifkan polimerisasi glukosa ke dalam rantai  $\beta$ -1,4-glukan, untuk membentuk struktur khas berbentuk riben, terdiri daripada ribuan rantai selulosa individu (Aswini et al. 2020). Menurut kajian daripada AL-Kalifawi dan Hassan (2014), apabila kepekatan sukrosa meningkat, penghasilan selulosa bakteria juga akan meningkat. Perbezaan kepekatan sukrosa antara hari ke-0 hingga hari ke-14 adalah 16.85 mg/mL untuk sampel kordial dan ekstrak yis manakala untuk sampel kordial, perbezaan kepekatan sukrosa daripada hari 0 hingga hari ke-14 adalah hanya 12.51 mg/mL. Semasa penggunaan glukosa untuk menghasilkan selulosa, asid glukonat akan terbentuk sebagai produk sampingan (Torán-Pereg et al. 2021). Kandungan gula yang lebih tinggi di dalam sampel kordial dengan ekstrak yis menghasilkan lebih banyak asid glukonat berbanding sampel kordial sahaja. Oleh itu, nilai pH dilihat juga menurun secara mendadak di dalam sampel kordial dengan ekstrak yis berbanding

sampel kordial sahaja (Naritomi et al. 1998).

Bagi kandungan protein, selepas hari 0, kedua-dua sampel menunjukkan pengurangan dalam kepekatan protein. Bagi sampel kordial sahaja kepekatan protein berkurang secara signifikan dari hari ke-10 sehingga hari ke-14 iaitu daripada 1.29 ke 0.36 mg/mL. Manakala, bagi sampel kordial dan ekstrak yis pula, kepekatan protein juga berkurang secara signifikan dari hari ke-10 sehingga hari ke-14 iaitu daripada 2.41 ke 0.42 mg/mL. Hal ini kerana protein digunakan untuk pertumbuhan sel dan pembinaan mikrofibril selulosa semasa penghasilan selulosa bakteria di dalam media (Kurosumi et al. 2009). Berat basah selulosa dalam media kordial dengan ekstrak yis adalah lebih dua kali ganda berat basah selulosa dalam media kordial tanpa penambahan ekstrak yis. Perbezaan kepekatan protein dari hari ke-0 hingga hari ke-14 adalah sebanyak 0.93 mg/mL untuk sampel kordial sahaja, manakala, untuk sampel kordial dan ekstrak yis adalah sebanyak 1.98 mg/mL. Matsuoka et al. (2005) dan Yodsuwan et al. (2012) mendapati bahawa penambahan ekstrak yis ke dalam medium yang mengandungi sukrosa telah menghasilkan selulosa bakteria yang tertinggi berbanding medium dengan ketiadaan ekstrak yis. Selain itu, vitamin, seperti piridoksin, asid nikotik, asid p-aminobenzoik dan biotin yang dijumpai dalam ekstrak yis merupakan vitamin yang paling merangsang pengeluaran selulosa bakteria (Suwannapinunt et al. 2007).

PENENTUAN KAPASITI PEGANGAN AIR SELULOSA BAKTERIA

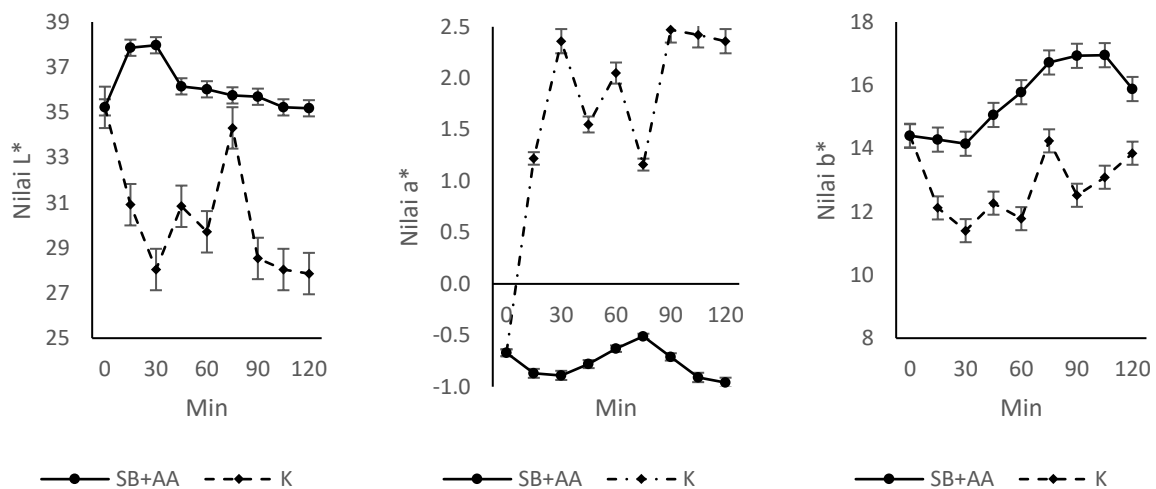
Setelah membandingkan berat basah selulosa bakteria yang terhasil, selulosa bakteria daripada sampel kordial dengan penambahan ekstrak yis telah dipilih untuk menghasilkan gel selulosa aktif (penambahan asid askorbik) untuk kajian seterusnya. Kapasiti pegangan air gel selulosa menggunakan media air suling didapati sebanyak 68.10% manakala kapasiti pegangan air selulosa bakteria yang dihasilkan oleh sampel minuman kordial dengan penambahan ekstrak yis menggunakan larutan asid askorbik ialah 63.63%. Hasil kajian ini selari dengan kajian yang dilakukan oleh Lazim et al. (2018) apabila hidrogel selulosa dianggap sebagai penyerap porous yang baik kerana wujudnya jaringan polimer 3-dimensi yang terbentuk daripada hasil silang paut. Ini menunjukkan potensi selulosa bakteria daripada minuman kordial yang telah tamat tempohnya sebagai gel selulosa aktif yang boleh ditambahkan dengan agen seperti antioksidan, anti-pemerangan dan anti-mikrobial untuk digunakan dalam industri makanan.

KESAN PENAMBAHAN GEL SELULOSA ANTI-PEMERANGAN KE ATAS PEMERANGAN ENZIM JUS EPAL

Kesan penyerapan asid askorbik ke atas gel selulosa bakteria yang dihasilkan daripada sampel kordial dan ekstrak yis diuji pada model jus epal segar. Rajah 4 menunjukkan nilai L\*, a\*, b\* dalam jus epal yang mengandungi gel selulosa aktif dan jus epal tanpa gel selulosa aktif selama 120 min pada suhu bilik. Nilai L\* yang melambangkan tahap kecerahan sesuatu objek dengan 100 melambangkan warna putih manakala 0

melambangkan warna hitam. Jadi, nilai L\* iaitu 35.22 akan menurun apabila darjah pemerangan meningkat (Subhashree et al. 2017). Untuk sampel jus epal yang mengandungi gel selulosa aktif, terdapat perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) antara bacaan nilai L\* daripada 0 min ke hingga ke 120 min. Dari min ke 0 hingga ke min 30, terdapat penambahan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) kepada nilai L\* iaitu daripada 35.22 ke 37.97. Ini membawa maksud yang darjah kecerahan telah meningkat dalam jus epal yang mengandungi gel selulosa dan asid askorbik. Dari min 30 hingga ke min 120 pula, nilai L\* menurun secara signifikan ( $p < 0.05$ ) iaitu daripada 37.97 ke 35.18. Manakala, bagi sampel jus epal kawalan pula, terdapat penurunan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dari min 0 ke min 120, iaitu daripada 35.22 ke 27.86. Nilai L\* menurun kerana pemerangan enzim menghasilkan pigmen perang dan pigmen perang ini akan mengurangkan darjah kecerahan dalam sesuatu sampel, menjadikannya lebih gelap.

Melihat pada aspek nilai a\* pula, kajian oleh Matsuo et al. (2019) menunjukkan bahawa nilai a\* akan meningkat apabila pemerangan enzim berlaku. Perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) boleh juga dilihat dalam nilai a\* dalam sampel jus epal yang mengandungi gel selulosa aktif iaitu nilai a\* telah berkurang daripada -0.67 ke -0.96, menunjukkan yang sampel ini telah menghasilkan lebih rona kehijauan. Manakala, untuk sampel kawalan pula, nilai a\* telah bertambah dengan signifikan ( $p < 0.05$ ) iaitu daripada -0.67 ke 2.36 dan ini menunjukkan bahawa sampel kawalan telah menghasilkan lebih banyak rona kemerahan. Bagi nilai b\*, kajian menunjukkan bahawa nilai b\* akan berkurang



RAJAH 4. Nilai L\*, a\* dan b\* untuk sampel jus epal dengan penambahan gel selulosa aktif (SB +AA) dan sampel jus epal tanpa penambahan gel selulosa aktif (K) untuk 120 min pada suhu bilik (31 °C)

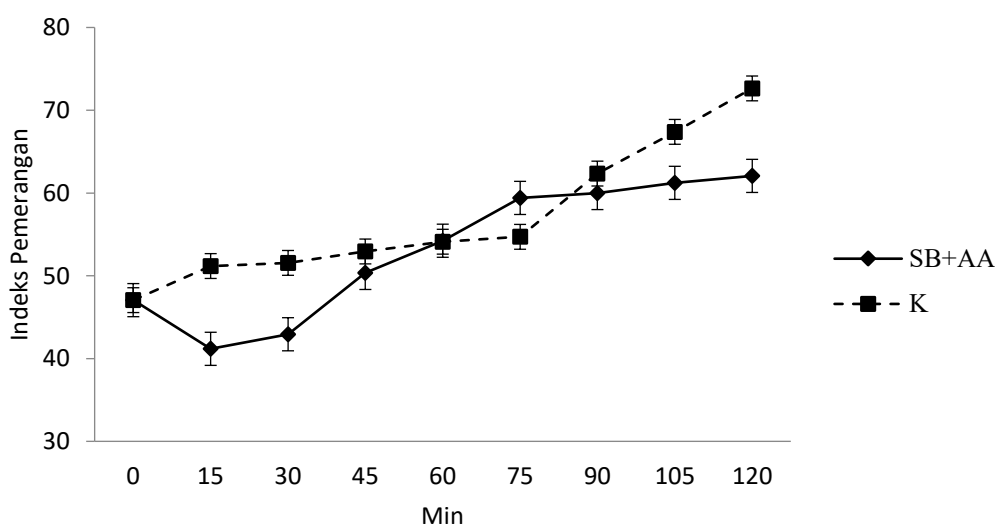


apabila tahap pemerangan meningkat (Matsuo et al. 2019). Perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) boleh juga dilihat dalam nilai  $b^*$  dalam sampel jus epal yang mengandungi gel selulosa aktif iaitu nilai  $b^*$  telah bertambah daripada 14.10 ke 15.88, menunjukkan yang sampel ini telah menghasilkan lebih rona kekuningan. Manakala, untuk sampel kawalan pula, nilai  $b^*$  telah berkurang dengan signifikan ( $p < 0.05$ ) iaitu daripada 14.10 ke 13.85 dan ini menunjukkan bahawa sampel kawalan telah menghasilkan lebih banyak rona kebiruan, seiring dengan penghasilan pigmen perang.

Indeks pemerangan jus epal dengan dan tanpa penambahan gel selulosa anti-pemerangan ditunjukkan dalam Rajah 5. Bagi jus epal dengan penambahan gel selulosa yang mengandungi asid askorbik, terdapat perbezaan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) antara nilai indeks pemerangan dan tempoh ujian ini dijalankan iaitu dari min ke 0 hingga min ke 120. Dari min ke 0 (47.06) sehingga ke min 30 (42.94), terdapat penurunan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dalam indeks pemerangan sebanyak 4.12. Ini menunjukkan bahawa asid askorbik adalah agen anti-pemerangan yang berkesan. Asid askorbik di dalam gel selulosa telah diresap keluar ke jus epal melalui resapan ringkas disebabkan oleh perbezaan kepekatan antara gel selulosa dan jus epal. Asid askorbik kemudian mengurangkan quinones yang terbentuk kepada difenols yang tidak mempunyai warna. Oleh itu, enzim PPO tidak dapat mengoksida polifenol di dalam

jus epal kepada kuinon (pigmen perang) (Diedrich & Julian 2010). Walau bagaimanapun, dari min ke 30 hingga ke 120, indeks pemerangan terus meningkat secara signifikan ( $p < 0.05$ ) daripada 42.94 hingga ke 62.07 dengan peningkatan sebanyak 19.13. Hal ini kerana asid askorbik di dalam gel selulosa perlahan-lahan telah mula habis digunakan dan tidak lagi dapat menghalang pemerangan enzim. Oleh sebab itu, PPO di dalam jus epal mula mengoksida polifenol ke kuinon dan kepekatan kuinon yang meningkat adalah selari dengan nilai indeks pemerangan (AL-Kalifawi & Hassan 2014).

Tidak seperti sampel jus epal yang mengandungi gel selulosa aktif anti-pemerangan, sampel kawalan ini tidak menunjukkan penurunan yang signifikan ( $p < 0.05$ ) dalam indeks pemerangan sepanjang tempoh ujian pemerangan ini dijalani. Hal ini kerana, di dalam sampel kawalan, tiada sebarang agen anti-pemerangan yang hadir untuk menukar kuinon yang terhasil kepada difenol ataupun untuk merencat aktiviti PPO. Oleh sebab itu, kepekatan kuinon akan terus meningkat dan pada masa yang sama meninggikan nilai indeks pemerangan juga. Secara keseluruhannya, perbezaan indeks dari min ke 0 hingga ke min 120 adalah 15.01 untuk sampel jus epal yang mengandungi gel selulosa anti-pemerangan dan 25.58 untuk sampel kawalan. Oleh demikian, kajian menunjukkan bahawa gel selulosa dengan penambahan asid askorbik mampu mengurangkan pemerangan enzim di dalam jus epal namun pada jangka masa tertentu.

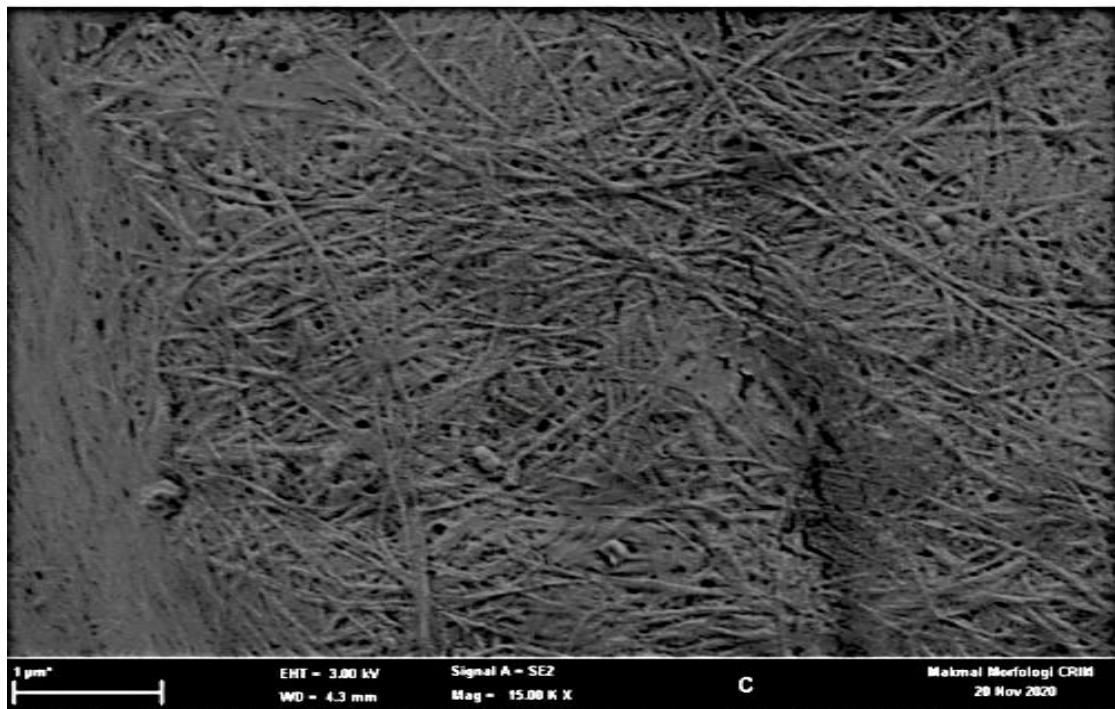


RAJAH 5. Indeks pemerangan untuk sampel jus epal dengan penambahan gel selulosa dan asid askorbik (SB + AA) serta sampel jus epal tanpa penambahan gel selulosa (K) pada suhu bilik (31 °C)

#### CIRI MORFOLOGI SELULOSA BAKTERIA

Pencirian morfologi terperinci bagi permukaan gel selulosa bakteria yang dihasilkan daripada sampel minuman kordial yang telah tamat tempoh dengan penambahan asid askorbik telah dilakukan menggunakan SEM (Rajah 6). Rajah 6 menunjukkan serat selulosa halus, yang membentuk sebuah struktur rangkaian tiga dimensi pada permukaan gel selulosa bakteria. Struktur rangkaian selulosa dilihat padat dan terdiri daripada pemasangan fibril secara rawak. Tidak seperti struktur selulosa bakteria yang dihasilkan dalam media

konvensional seperti media HS yang struktur selulosanya adalah berpori (Costa et al. 2017). Pelikel selulosa bakteria dengan penambahan asid askorbik bukan sahaja mempunyai struktur retikulasi yang terdiri daripada nanofibril ultrahalus tetapi juga menunjukkan terdapat tegangan antara muka yang kuat (*interface tension*) di antara serat-serat selulosa bakteria dan mempunyai penyebaran yang baik dalam matriks, tanpa agregat yang ketara. Ciri-ciri tersebut menyokong penyataan bahawa gel selulosa bakteria mampu meresap bahan aktif seperti asid askorbik di dalam strukturnya.



RAJAH 6. Mikrograf SEM untuk permukaan gel selulosa dengan penambahan asid askorbik pada magnifikasi 15000x

#### KESIMPULAN

Secara keseluruhannya, minuman kordial yang telah tamat tempohnya berpotensi sebagai substrat bagi menghasilkan selulosa bakteria. Walau bagaimanapun, sampel kordial tamat tempoh dengan penambahan ekstrak yis merupakan media fermentasi yang lebih baik untuk menghasilkan selulosa bakteria kerana menghasilkan berat basah yang lebih tinggi. Selain itu, gel selulosa bakteria dengan penambahan asid askorbik terbukti dapat mengurangkan pemerangan enzim yang berlaku pada jus epal segar. Kajian mendapati bahawa

jus epal yang mengandungi gel selulosa aktif (dengan asid askorbik) menunjukkan penurunan indeks pemerangan yang lebih rendah berbanding jus epal tanpa gel selulosa aktif.

#### PENGHARGAAN

Penyelidikan ini ditaja oleh geran FRGS/1/2020/WAB04/UKM/02/5. Pengarang ingin merakamkan setinggi-tinggi penghargaan kepada Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia yang menyediakan kemudahan penyelidikan.

## RUJUKAN

- Ali, H., El-Gizawy, A., El-bassiouny, R. & Saleh, M. 2014. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. *Journal of Food Science Technology* 52(6): 3651-3659.
- Alabbosh, K.F.S., Hazrin Chong, N.H. & Al Balawi, A.N. 2021. Agricultural wastes as a carbon or nitrogen source for production of bacterial cellulose. A mini review. *Poll. Res.* 40(2): 429-437.
- AL-Kalifawi, E. & Hassan, I.A. 2014. Factors influence on the yield of bacterial cellulose of kombucha (*khubdat humza*). *Baghdad Science Journal* 11(3): 1420-1428.
- Al Qadr Imad Wan-Mohtar, W.A., Halim-Lim, S.A., Balamurugan, J.P., Saad, M.Z.M., Azizan, N.A.Z., Jamaludin, A.A. & Ilham, Z. 2021. Effect of sugar-pectin-citric acid pre-commercialization formulation on the physicochemical, sensory, and shelf-life properties of musa Cavendish banana jam. *Sains Malaysiana* 50(5): 1329-1342.
- Andritsou, V., De Melo, E.M., Tsouko, E., Ladakis, M., Maragkoudaki, S., Koutinas, A.A. & Matharu, A.S. 2018. Synthesis and characterization of bacterial cellulose from citrus-based sustainable resources. *ACS Omega* 3(8): 10365-10373.
- Aswini, K., Gopal, N.O. & Uthandi, S. 2020. Optimized culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter senegalensis* MA1. *BMC Biotechnology* 20(1): 1-16.
- Betlej, I., Zakaria, S., Krajewski, K.J. & Boruszewski, P. 2021. Bacterial cellulose-properties and its potential application. *Sains Malaysiana* 50(2): 493-505.
- Costa, A.F.S., Almeida, F.C.G., Vinhas, G.M. & Sarubbo, L.A. 2017. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* using corn steep liquor as nutrient sources. *Frontiers in Microbiology* 8: 2027.
- Diedrich, J.K. & Julian, R.R. 2010. Site-selective fragmentation of peptides and proteins at quinone-modified cysteine residues investigated by ESI-MS. *Analytical Chemistry* 82(10): 4006-4014.
- El, S., Koraichi, S., Latrache, H. & Hamadi, F. 2012. Scanning electron microscopy (SEM) and environmental SEM: Suitable tools for study of adhesion stage and biofilm formation. *Scanning Electron Microscopy* 13(6): 163-166.
- Garg, M. 2019. Treatment and recycling of wastewater from beverages/the soft drink bottling industry. In *Advances in Biological Treatment of Industrial Waste Water and their Recycling for a Sustainable Future*. Singapore. Springer. pp. 333-361.
- Goh, W.N., Rosma, A., Kaur, B., Fazilah, A., Karim, A.A. & Bhat, R. 2012. Fermentation of black tea broth (kombucha): I. effects of sucrose concentration and fermentation time on the yield of microbial cellulose. *International Food Research Journal* 19(1): 109-117.
- Jagannath, A., Kalaiselvan, A., Manjunatha, S.S., Raju, P.S. & Bawa, A.S. 2008. The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (Nata-de-coco) by *Acetobacter xylinum*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24(11): 2593-2599.
- Kaanane, A. & Labuza, T.P. 2012. Time and temperature effect on stability of Moroccan processed orange juice during storage. *Journal of Food Science* 53(5): 1470-1473.
- Kurosumi, A., Sasaki, C., Yamashita, Y. & Nakamura, Y. 2009. Utilization of various fruit juices as carbon source for production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693. *Carbohydrate Polymers* 76(2): 333-335.
- Lazim, A.M., Osman, A.H. & Mokhtarom, M. 2018. Adsorption ability of gamma irradiated bacterial cellulose hydrogel using Langmuir and Freundlich isotherme. *Sains Malaysiana* 47(4): 715-723.
- Lee, K.Y., Buldum, G., Mantalaris, A. & Bismarck, A. 2020. More than meets the eye in bacterial cellulose: Biosynthesis, bioprocessing, and applications in advanced fiber composites. *Macromolecular Bioscience* 14(1): 10-32.
- Li, Z., Chen, S.Q., Cao, X., Li, L., Zhu, J. & Yu, H. 2021. Effect of pH buffer and carbon metabolism on the yield and mechanical properties of bacterial cellulose produced by *Komagataeibacter hansenii* ATCC 53582. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 31(3): 429-438.
- Mæhre, H.K., Dalheim, L., Edvinsen, G.K., Elvevoll, E.O. & Jensen, I.J. 2018. Protein determination method matters. *Foods* 7(1): 16-22.
- Mansor, N., Ramli, S., Azhari, S.H. & Abd Rahim, M.H. 2020. Effects of different preservation treatments on nutritional profile on juices from different sugar cane varieties. *Sains Malaysiana* 49(2): 283-291.
- Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.I. & Lee, Y.C. 2005. Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry* 339(1): 69-72.
- Matsuoka, M., Tsuchida, T., Matsushita, K., Adachi, O. & Yoshinaga, F. 2005. A synthetic medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* subsp. sucrofermentans. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 60(4): 575-579.
- Matsuo, Y., Miura, L.A., Araki, T. & Yoshie-Stark, Y. 2019. Proximate composition and profiles of free amino acids, fatty acids, minerals and aroma compounds in *Citrus natsudaidai* peel. *Food Chemistry* 279: 356-363.
- Moniri, M., Moghaddam, A.B., Azizi, S., Rahim, R.A., Ariff, A.B., Saad, W.Z., Navaderi, M. & Mohamad, R. 2017. Production and status of bacterial cellulose in biomedical engineering. *Nanomaterials* 7(9): 1-26.
- Naomi, R., Idrus, R.B.H. & Fauzi, M.B. 2020. Plant-vs. Bacterial-derived cellulose for wound healing: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17(18): 1-25.
- Naritomi, T., Kouda, T., Yano, H. & Yoshinaga, F. 1998. Effect of lactate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering* 85(1): 89-95.

- Pa'e, N., Zahan, K.A. & Muhamad, I.I. 2011. Production of biopolymer from *Acetobacter xylinum* using different fermentation methods. *International Journal of Engineering & Technology* 11(5): 90-98.
- Quijano, L. 2017. Embracing bacterial cellulose as a catalyst for sustainable fashion. Liberty University. Ph.D. Thesis (Unpublished).
- Raghavendran, V., Asare, E. & Roy, I. 2020. Bacterial cellulose: Biosynthesis, production, and applications. *Advances in Microbial Physiology* 77(11): 89-138.
- Rapdu, Y.D., Momdad, D.Q.G., Suhsudwarq, V., Vijal, Z. & Vidyhu, F. 2006. Production of bacterial cellulose from fermented soya beans waste. *Baghdad Science Journal* 192(23): 137-143.
- Rasouli, M., Ostavar-Ravari, A. & Shokri-Afra, H. 2014. Characterization and improvement of phenol-sulfuric acid microassay for glucose-based glycogen. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 18(4): 2020-2024.
- Revin, V., Liyaskina, E., Nazarkina, M., Bogatyreva, A. & Shchankin, M. 2018. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products. *Brazilian Journal of Microbiology* 49(Supplement 1): 151-159.
- Rodzi, R.M., Nopiah, Z.M., Ezlin, N. & Basri, A. 2018. Risk management framework towards zero waste strategy for Malaysia TVET institution. *Eurasian Journal of Analytical Chemistry* 13(6): 505-511.
- San-Valero, P., Abubackar, H.N., Veiga, M.C. & Kennes, C. 2020. Effect of pH, yeast extract and inorganic carbon on chain elongation for hexanoic acid production. *Bioresource Technology* 300: 122659.
- Sari, A.M., Budianto, F.A., Nursiwi, A., Sanjaya, A.P., Utami, R. & Zaman, M.Z. 2021. Study of *Acetobacter xylinum* FNCC 0001 fermentation kinetics using artificial media containing various carbon and nitrogen concentrations. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* 828(1): 012004.
- Sheltami, R.M., Abdullah, I., Ahmad, I., Dufresne, A. & Kargarzadeh, H. 2012. Extraction of cellulose nanocrystals from mengkuang leaves (*Pandanus tectorius*). *Carbohydrate Polymers* 88(2): 772-779.
- Son, H.J., Heo, M.S., Kim, Y.G. & Lee, S.J. 2001. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter* sp.A9 in shaking cultures. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 33(1): 1.
- Sreeramulu, G., Zhu, Y. & Knol, W. 2000. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(6): 2589-2594.
- Subhashree, S.N., Sunoj, S., Xue, J. & Bora, G.C. 2017. Quantification of browning in apples using colour and textural features by image analysis. *Food Quality and Safety* 1(3): 221-226.
- Supian, N.N.I., Zakaria, J., Amin, K.N.M., Mohamad, S. & Mohamad, S.F.S. 2021. Effect of fermentation period on bacterial cellulose production from oil palm frond (OPF) juice. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*. IOP Publishing. 1092(1): 012048.
- Suwannapinunt, N., Burokorn, J. & Thaenthane, S. 2007. Effect of culture conditions on bacterial cellulose (BC) production from *Acetobacter xylinum* TISTR976 and physical properties of BC parchment paper. *Journal of Science & Technology* 14(4): 357-365.
- Swingler, S., Gupta, A., Gibson, H., Kowalczyk, M., Heaselgrave, W. & Radecka, I. 2021. Recent advances and applications of bacterial cellulose in biomedicine. *Polymers* 13(3): 412.
- Torán-Pereg, P., del Noval, B., Valenzuela, S., Martínez, J., Prado, D., Perisé, R. & Arbolea, J.C. 2021. Microbiological and sensory characterization of kombucha SCOBY for culinary applications. *International Journal of Gastronomy and Food Science* 23: 100314.
- Yodsuan, N., Owatworakit, A., Ngaokla, A., Tawichai, N. & Soykeabkaew, N. 2012. Effect of carbon and nitrogen sources on bacterial cellulose production for bionanocomposite materials. In *Conference: The 1<sup>st</sup> MFUIC*. Mae Fah Luang University.
- Zhao, H., Li, J. & Zhu, K. 2018. Bacterial cellulose production from waste products and fermentation conditions optimization. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 394(2): 45-47.

\*Pengarang surat-menyurat; email: nurulaqilah@ukm.edu.my