

# ISOLASI NANOKRISTALIN SELULOSA BAKTERIAL DARI JUS LIMBAH KULIT NANAS: OPTIMASI WAKTU HIDROLISIS

## (ISOLATION OF NANOCRYSTALLINE BACTERIAL CELLULOSE FROM PINEAPPLE PEEL WASTE JUICE: HYDROLYSIS TIME OPTIMIZATION)

Budiman Anwar<sup>1,2</sup>, Bunbun Bundjali<sup>2</sup>, dan I Made Arcana<sup>2</sup>

<sup>1</sup>)Departemen Pendidikan Kimia, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia  
Jl. Dr. Setiabudhi No. 229, Bandung

<sup>2</sup>)Kelompok Keahlian Kimia Fisika dan Anorganik, FMIPA, Institut Teknologi Bandung  
Jl. Ganesha No. 10 Bandung

E-mail : [bm.go.upi@gmail.com](mailto:bm.go.upi@gmail.com)

Received: 20 Januari 2016; revised: 10 Februari 2016; accepted: 17 Maret 2016

### ABSTRAK

Nanokristalin selulosa (NCC) adalah bionanomaterial yang terbarukan, berkelanjutan, ramah lingkungan, dan potensi penggunaannya sangat luas. Salah satu metode untuk mengisolasi NCC dari selulosa adalah dengan hidrolisis menggunakan asam. Waktu hidrolisis adalah salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan isolasi NCC disamping konsentrasi asam dan suhu hidrolisis. Penelitian ini difokuskan untuk memperoleh waktu hidrolisis optimum untuk isolasi NCC. Selulosa bakterial (BC), yang disintesis menggunakan media kultur jus limbah kulit nanas, digunakan sebagai sumber selulosa yang murah dan ramah lingkungan. Optimasi waktu hidrolisis dikarakterisasi dengan stabilitas dispersi, %-hasil, dan diameter partikel rata-rata yang diukur menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA). Waktu optimum hidrolisis yang memberikan dispersi stabil dengan %-hasil terbanyak (62%) dan ukuran partikel terkecil (diameter rata-rata 41,6 nm) adalah 25 menit pada suhu dan konsentrasi asam tertentu. Analisis *FTIR* memperlihatkan spektrum NCC mirip dengan BC-asal dengan puncak-puncak serapan khas untuk selulosa. Sedikit pergeseran terjadi pada puncak sekitar 2900  $\text{cm}^{-1}$  dan 1430  $\text{cm}^{-1}$  yang disebabkan oleh adanya peningkatan derajat kristalinitas, hal ini menunjukkan pula bahwa BC telah berubah menjadi NCC. Pengamatan dengan *Transmission Electron Microscopy* (TEM) terhadap NCC memperlihatkan morfologi yang berbentuk jarum.

Kata kunci : Nanokristalin selulosa, Selulosa bakterial, Limbah kulit nanas, Waktu hidrolisis

### ABSTRACT

*Nanocrystalline cellulose (NCC) is a renewable, sustainable and environmentally friendly bionanomaterial and potential for used in the very wide range application. The one of methods to isolate NCC is the acid hydrolysis of cellulose. Hydrolysis time is the one of the important factors that decide the success of isolating NCC, besides of acid concentration and temperature of hydrolysis. This study is focused to obtain the optimum hydrolysis time for NCC isolation. Bacterial cellulose (BC), which synthesized using pineapple peel waste juice as a culture medium, was used as the low cost and environmentally friendly cellulose source. Optimization of the hydrolysis time was characterized by the stability of the dispersion, %-yield, and the average particle diameter measured by Particle Size Analyzer (PSA). The optimum time hydrolysis that give a stable dispersion with the most %-yields (62%) and the smallest particle size (average diameter of 41.6 nm) is 25 minutes at a certain temperature and acid concentration. FTIR analysis shows that NCC spectrum is similar to the origin BC and shows the typical absorption peaks for cellulose. A slight shift of peaks occurred around 2900  $\text{cm}^{-1}$  and 1430  $\text{cm}^{-1}$  caused by an increase in the degree of crystallinity, and it indicates that BC has turned into NCC. Observation by Transmission Electron Microscopy (TEM) to NCC shows the morphology of NCC that has needle-like structure.*

Keywords : Nanocrystalline cellulose, Bacterial cellulose, Pineapple peel waste, Hydrolysis time

## PENDAHULUAN

Selulosa adalah biopolimer dengan kelimpahan di alam sangat berlimpah dan merupakan material terbarukan yang sangat penting dan dapat diproses menjadi berbagai produk polimer yang ramah lingkungan (Klemm *et al.* 2005). Produksi selulosa dalam skala nano sangat menarik perhatian karena sifat-sifatnya yang unggul, seperti kekuatan dan kekerasan yang tinggi dipadu dengan sifat yang ringan, terbiodegradasi, dan terbarukan (Maddahy *et al.* 2012).

Material yang digunakan sebagai sumber selulosa untuk memperoleh selulosa dalam skala nano, dikenal dengan istilah nanokristalin selulosa (NCC), pada umumnya berasal dari tumbuhan tingkat tinggi seperti kayu (Sacui *et al.* 2014), kapas (Chang *et al.* 2010), jerami gandum (Helbert *et al.* 1996), sabut kelapa (Bendahou *et al.* 2009), serat bambu (Brito *et al.* 2012; Zhang *et al.* 2012), *Microcrystalline cellulose* (MCC) (Bondeson *et al.* 2006, loelovich 2012), serat rami (Habibi and Dufresne 2008), kenaf (Zaini *et al.* 2013), serat *Phormium tenax* (Fortunati *et al.* 2013), daun mengkuang (Sheltami *et al.* 2012), serat sisal (Garcia de Rodriguez *et al.* 2006), dan lain-lain. Selain itu, *tunicate* (sejenis hewan laut) (Angles and Dufresne 2000, Sacui *et al.* 2014) dan selulosa bakterial (BC) (Hirai *et al.* 2009, George *et al.* 2010) juga digunakan sebagai sumber selulosa. Penggunaan BC sebagai sumber selulosa mempunyai beberapa keunggulan, salah satunya adalah kemurniannya. Selulosa dari tumbuhan selalu mengandung hemiselulosa dan lignin sehingga proses pemurniannya cukup sulit. Proses pemurnian selulosa dari tumbuhan meliputi pelarutan dan pemisahan yang memerlukan berbagai bahan kimia yang dapat mencemari lingkungan. Selain itu, sintesis BC dapat memanfaatkan berbagai limbah yang mencemari lingkungan sebagai media kulturnya. Salah satu limbah pertanian yang dapat dimanfaatkan sebagai media kultur adalah limbah kulit nanas.

Perkebunan nanas di Indonesia meliputi lebih dari 28.000 hektar. Produksi nanas keseluruhan per tahunnya mencapai 20 ton per hektar dengan persentase limbah kulit nanas sekitar 23%, dengan demikian limbah kulit nanas yang dihasilkan lebih dari 128.000 per tahun. Limbah kulit nanas mengandung sumber gula dan nitrogen yang berguna untuk biosintesis BC oleh *Gluconacetobacter xylinus*. BC yang dihasilkan dengan menggunakan jus limbah kulit nanas sebagai media kultur mempunyai sifat yang serupa dengan BC yang dihasilkan dengan

menggunakan media konvensional (*Hestrin & Schramm's medium*), tetapi lebih murah dan hasilnya 80% lebih banyak (Castro *et al.* 2011, Anwar *et al.* 2015). Berdasarkan penelusuran literatur, belum ada laporan tentang penggunaan BC yang disintesis dengan menggunakan media kultur jus limbah kulit nanas sebagai sumber selulosa untuk memperoleh NCC. Telah diketahui bahwa morfologi dan sifat-sifat NCC mempengaruhi kinerjanya pada berbagai aplikasi. Telah diketahui pula bahwa morfologi dan sifat-sifat NCC bergantung pada sumber selulosa. Dengan demikian, penelitian dan pengembangan NCC dari berbagai sumber masih sangat relevan (Silverio *et al.* 2013).

Metode yang paling umum digunakan untuk mengisolasi NCC dari selulosa adalah hidrolisis dengan asam. Waktu hidrolisis adalah salah satu faktor yang sangat menentukan keberhasilan isolasi NCC, disamping konsentrasi asam dan suhu hidrolisis (Bondeson *et al.* 2006, loelovich 2012). Penelitian ini difokuskan untuk memperoleh waktu hidrolisis optimum untuk isolasi NCC dari sumber yang murah dan ramah lingkungan, yaitu BC yang disintesis dengan menggunakan jus limbah kulit nanas sebagai media kultur. Optimasi lainnya, yaitu konsentrasi asam dan suhu hidrolisis, akan dipublikasikan dalam waktu dekat.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk biosintesis BC diperoleh dari pemasok lokal dengan *grade* teknis, sedangkan bahan-bahan kimia yang digunakan untuk mengkarakterisasi dibeli dari Sigma & Aldrich Chemical Co. dengan *grade* pro analisis. *Gluconacetobacter xylinus* diperoleh dari pemasok lokal. Limbah kulit nanas diperoleh dari perkebunan nanas di daerah Subang Jawa Barat Indonesia.

### Metode

Limbah kulit nanas yang sudah bersih dibuat jus kemudian diencerkan dan disterilkan. Keasaman diatur pada pH = 4,5 dengan menggunakan asam asetat glasial. Inokulum sebanyak 10% v/v ditambahkan ke dalam media kultur dan diinkubasi secara statis pada suhu kamar selama 14 hari (Moosavi-Nasab and Yousefi 2010). Nata yang diperoleh dicuci dalam air mendidih selama 15 menit kemudian direndam dalam larutan NaOH 1% w/v dan selanjutnya dibilas hingga netral. Nata dikeringkan dalam oven pada 70°C selama

48 jam sehingga diperoleh *film BC*. Sebagian *film BC* diblender untuk mendapatkan serbuk *BC* (Anwar *et al.* 2015).

Isolasi *NCC* meliputi proses hidrolisis dengan asam sulfat, sentrifugasi, dialisis, dan sonikasi. Proses optimasi dikarakterisasi dengan melihat kestabilan dispersi *NCC*, %-hasil *NCC*, dan diameter partikel *NCC* yang diukur dengan BECKMAN COULTER DelsaNano C *particle analyzer*. Optimasi dilakukan dengan variasi waktu hidrolisis (5 menit, 15 menit, 25 menit, 30 menit, 35 menit, 40 menit, dan 45 menit) pada konsentrasi asam sulfat 50 %volume, suhu hidrolisis 50°C, dan rasio asam-BC 50 mL/g. Setelah proses hidrolisis, semua contoh dilakukan *quenching* dengan mengencerkannya sebanyak 10 kali dengan air deionisasi. Bagian *cloudy* dari dispersi selulosa dipisahkan dan disentrifugasi pada percepatan 4000 *g* selama 10 menit. Endapan selanjutnya didialisis dalam air deionisasi sampai dispersi *NCC* mencapai pH ~ 6 menggunakan CelluSep T4 *Regenerated Cellulose Tubular Membrane* MWCO12.000–14.000. Untuk memperoleh serbuk *NCC*, dispersi *NCC* dilakukan *freeze dried* menggunakan OPERON *Freeze Dryer Bench Top* FDB-5003.

Spektrum *FTIR* serbuk *BC* dan *NCC* diperoleh dengan menggunakan alat PRESTIGE 21 SHIMADZU *FTIR* pada daerah frekuensi 4500–450  $\text{cm}^{-1}$  dan digunakan untuk mengetahui adanya pergeseran gugus fungsi. Selain itu, studi *FTIR* dapat pula digunakan untuk menentukan derajat kristalinitas dalam selulosa dengan membandingkan puncak absorbansi tertentu (Salmen *et al.* 2005). Menurut Nelson and O'Connor (1964), rasio kristalinitas (Cr.R.) selulosa dapat diperoleh dengan membandingkan puncak absorbansi pada sekitar 1372  $\text{cm}^{-1}$  ( $A_{1372}$ ) dan sekitar 2900  $\text{cm}^{-1}$  ( $A_{2900}$ ):

$$\text{Cr.R.} = A_{1372} / A_{2900} \dots\dots\dots (1)$$

Analisis *SEM film* kering *BC* dilakukan dengan menggunakan JEOL JSM-6510 yang dioperasikan pada 8 kV sampai dengan 10 kV. Morfologi *NCC* diamati dengan *Transmission Electron Microscope (TEM)*. Setetes dispersi *NCC* diendapkan pada grid mikroskop dan dibiarkan mengering untuk pengambilan citra *TEM* menggunakan JEOL JEM-1400.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Optimasi Waktu Hidrolisis untuk Isolasi Nanokristalin Selulosa (*NCC*)

Dari hasil optimasi waktu hidrolisis, terdapat empat variasi waktu yaitu 25 menit,

30 menit, 35 menit, dan 40 menit yang menghasilkan dispersi koloid yang stabil. Bila waktu hidrolisis kurang dari 25 menit, tidak terbentuk dispersi koloid yang stabil. Hal ini disebabkan karena proses hidrolisis tidak memadai sehingga penghilangan daerah amorf tidak tuntas dan ukuran partikel belum mencapai skala nano. Sedangkan apabila waktu hidrolisis diatas 40 menit, selulosa bakterial telah mengalami depolimerisasi hingga daerah kristalinitasnya. Waktu hidrolisis yang memberikan dispersi stabil dengan %-hasil terbanyak (62%) dan ukuran partikel terkecil (diameter rata-rata 41,6 nm) adalah 25 menit, pada suhu 50°C dan konsentrasi asam sulfat 50%. Ikhtisar hasil optimasi diperlihatkan pada Tabel 1. dan distribusi ukuran partikel pada berbagai waktu hidrolisis diperlihatkan pada Gambar 1.

Diameter yang dihasilkan dari pengukuran *Particle Size Analyzer (PSA)* adalah diameter hidrodinamika ( $d_H$ ) yaitu diameter bola pejal yang berdifusi pada kecepatan yang sama dengan partikel yang diukur. Menurut Shaw (2013), untuk partikel yang tidak berbentuk bola, *PSA* akan memberikan diameter bola yang mempunyai koefisien difusi translasi rata-rata sama dengan partikel yang diukur (Gambar 2). Dengan demikian bagi partikel yang berbentuk jarum, pengukuran diameter partikel dengan *PSA* akan memberikan hasil yang cenderung lebih besar dari diameter sebenarnya. Akan tetapi, *PSA* memberikan informasi ukuran partikel pada sistem partikel yang ruah (*bulk system*). Ukuran partikel sebenarnya dapat diperoleh dari hasil analisis *TEM*.

### Spektroskopi *FTIR*

Analisis *FTIR* memperlihatkan bahwa *NCC* dan *BC*-asal yang diperoleh melalui hidrolisis asam sulfat mempunyai spektrum yang hampir identik seperti diperlihatkan pada Gambar 3. Puncak-puncak khas selulosa nampak pada spektrum *FTIR BC*-asal maupun *NCC*. Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis asam pada kondisi optimum tidak mengubah struktur selulosa. Sedikit pergeseran gugus fungsi terjadi pada puncak sekitar 2900  $\text{cm}^{-1}$  (vibrasi regangan C-H) dan 1430  $\text{cm}^{-1}$  (vibrasi tekuk  $-\text{CH}_2-(\text{C}_6)-$  simetris). Peningkatan daerah kristalin ditegaskan oleh pergeseran puncak 2918  $\text{cm}^{-1}$  ke 2897  $\text{cm}^{-1}$  dengan intensitas yang lebih tinggi dan peningkatan intensitas pada “pita kristalinitas” yaitu disekitar puncak 1430  $\text{cm}^{-1}$  (Ciolacu *et al.* 2011).

Rasio kristalinitas *BC*-asal dan *NCC* yang diperoleh dari spektrum *FTIR* dengan menggunakan Persamaan (1) berturut-turut

adalah 0,829 dan 0,965. Hal ini menunjukkan bahwa *NCC* mempunyai derajat kristalinitas yang lebih tinggi daripada *BC*-asal. Peningkatan derajat kristalinitas dalam *NCC* menunjukkan bahwa penghilangan daerah amorf pada *BC*-asal sebagian besar telah berhasil.

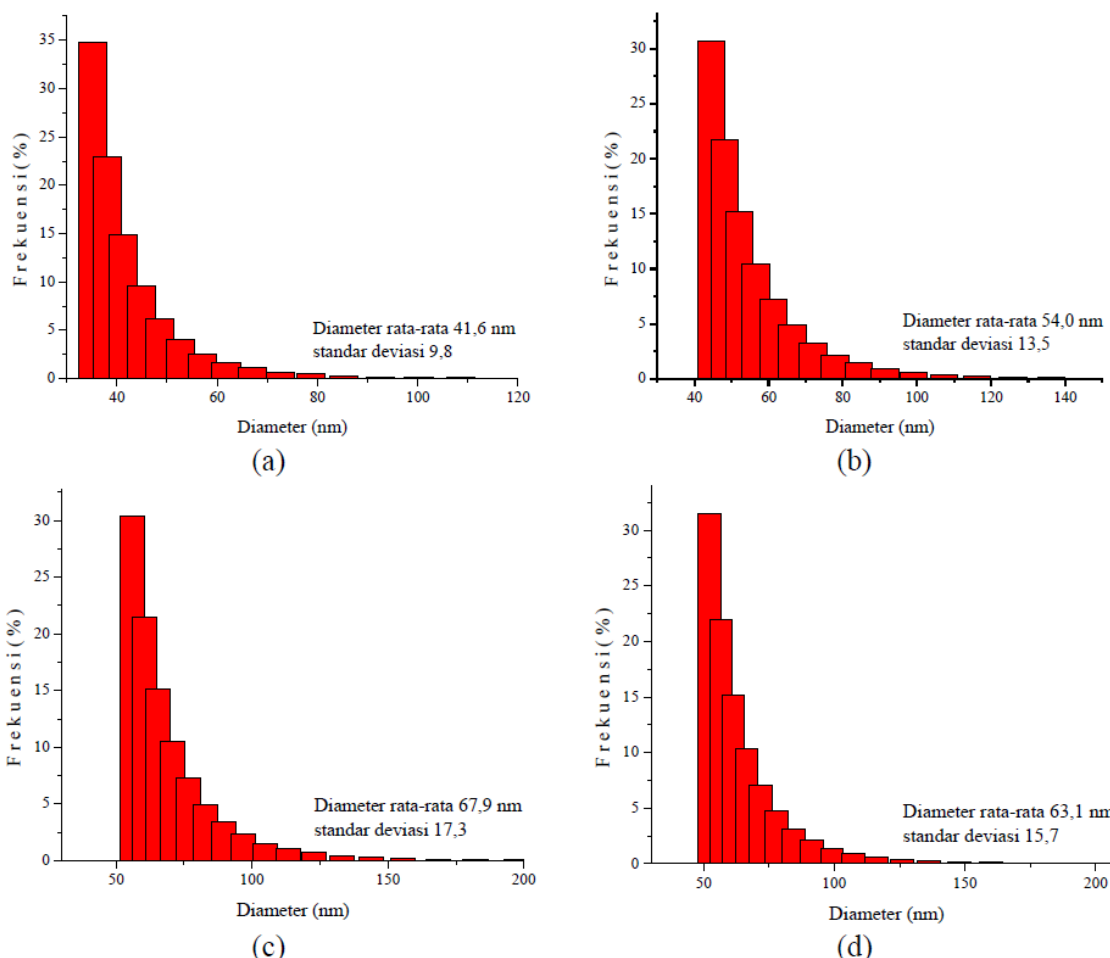
### Morfologi Partikel *NCC*

Citra *SEM* (Gambar 4) memperlihatkan mikro-arsitektur dari mikrofibril *BC* dengan panjang masih dalam skala mikro dan diameter rata-rata 51 nanometer (Anwar *et al.* 2015).

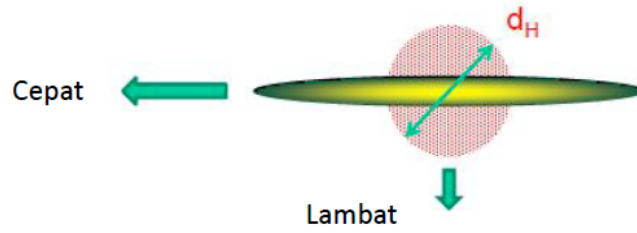
Hasil analisis *TEM* terhadap *NCC* memberikan informasi mengenai morfologi dan ukuran partikel *NCC* sebenarnya. Citra *TEM* (Gambar 5) memperlihatkan morfologi *NCC* yang mempunyai struktur berbentuk jarum dengan panjang rata-rata 420 nm dan diameter rata-rata 34 nm. Diameter partikel sebenarnya yang diperoleh dari analisis *TEM* lebih kecil dibandingkan dengan hasil pengukuran *PSA* karena morfologi partikel berbentuk jarum seperti telah diprediksi sebelumnya.

Tabel 1. Optimasi waktu hidrolisis pada suhu 50°C dan konsentrasi asam sulfat 50%

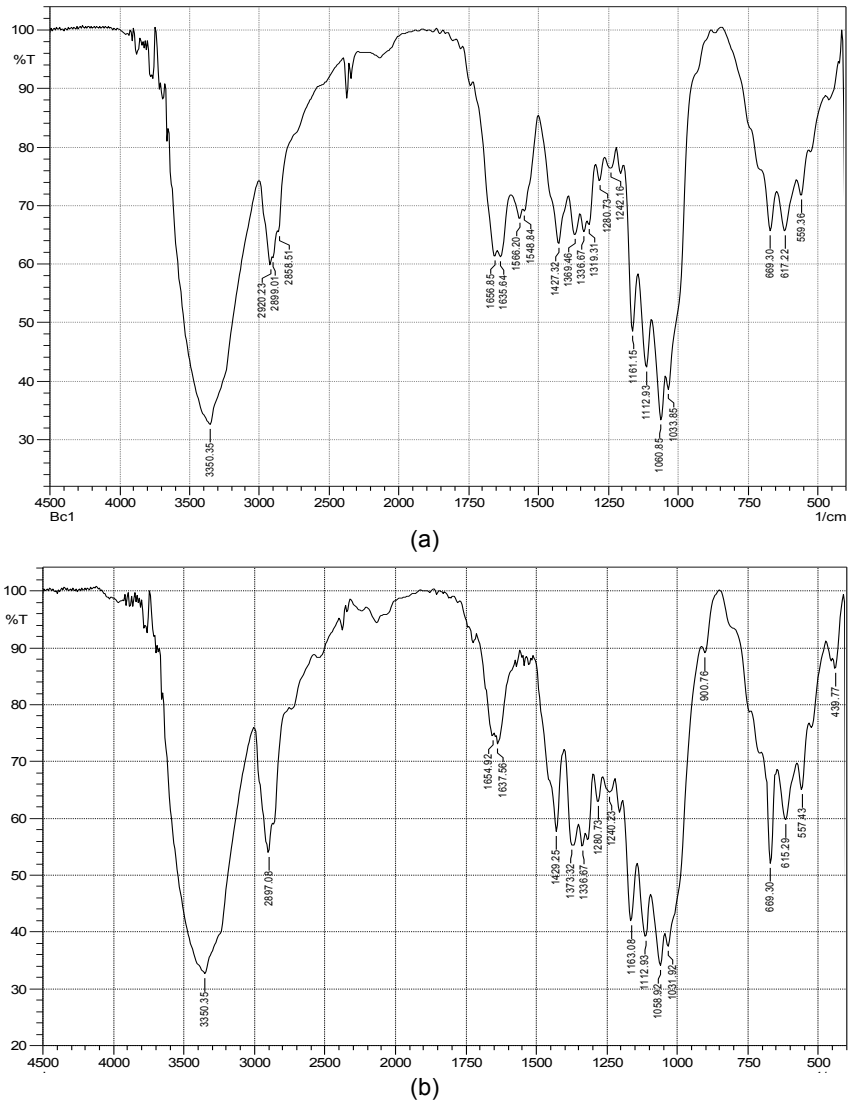
Waktu hidrolisis (menit)	Kestabilan dispersi	%-hasil	Diameter rata-rata (nm)
5	Mengendap	-	-
15	Mengendap	-	-
25	Stabil	62,0	41,6
30	Stabil	40,8	54,0
35	Stabil	52,8	67,9
40	Stabil	55,0	63,1
45	Terhidrolisis sempurna	-	-



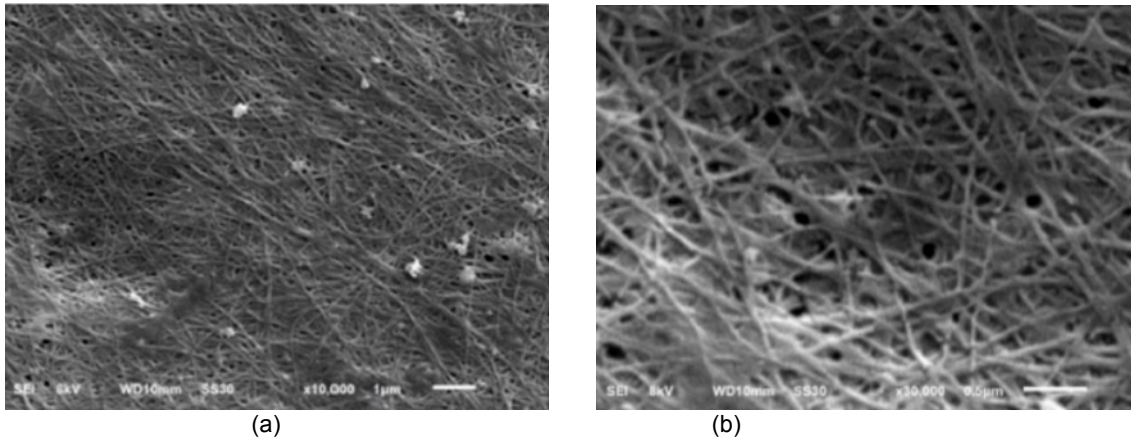
Gambar 1. Distribusi ukuran partikel *NCC* hasil pengukuran dengan *Particle Size Analyzer (PSA)* pada waktu hidrolisis (a) 25 menit, (b) 30 menit, (c) 35 menit, dan (d) 40 menit



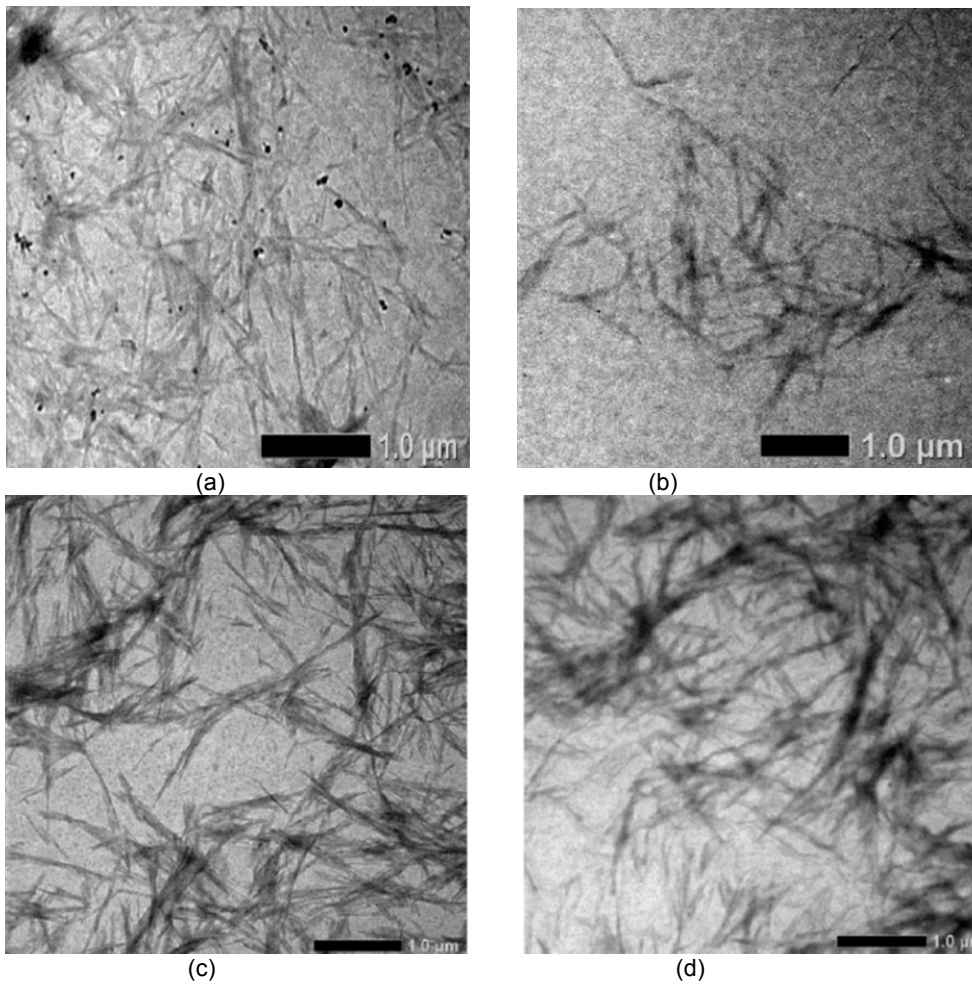
Gambar 2. Diameter hidrodinamika untuk partikel berbentuk jarum akan terukur lebih besar daripada ukuran sebenarnya



Gambar 3. Spektrum FTIR untuk (a) BC, (b) NCC keduanya memperlihatkan puncak-puncak serapan khas untuk selulosa. Pergeseran bilangan gelombang di sekitar  $2900\text{ cm}^{-1}$  dan  $1430\text{ cm}^{-1}$  menunjukkan bahwa NCC mempunyai derajat kristalinitas lebih tinggi daripada BC-asal



Gambar 4. Citra SEM memperlihatkan mikro arsitektur dari microfibril BC perbesaran (a) 10.000x dan (b) 30.000x. Microfibril BC mempunyai panjang dalam skala mikro dan diameter rata-rata 51 nanometer



Gambar 5. Citra TEM untuk NCC yang diperoleh pada waktu hidrolisis (a) 25 menit, (b) 30 menit, (c) 35 menit, dan (d) 40 menit. Morfologi NCC berbentuk jarum dengan panjang rata-rata 420 nm dan diameter rata-rata 34 nm.

## KESIMPULAN

Penelitian pendahuluan ini difokuskan pada penentuan waktu optimum isolasi NCC dari sumber yang murah dan ramah lingkungan, yaitu BC yang disintesis dengan menggunakan jus limbah kulit nanas sebagai media kultur. Waktu hidrolisis optimum diperoleh pada rentang 25 menit sampai dengan 40 menit pada 50°C dan konsentrasi asam sulfat 50%-v/v. Derajat kristalinitas NCC lebih tinggi daripada BC-asal. Morfologi partikel NCC berbentuk jarum dengan panjang rata-rata 420 nm dan diameter rata-rata 34 nm. Penelitian selanjutnya yang perlu dilakukan adalah optimasi konsentrasi asam sulfat dan suhu hidrolisis serta karakterisasi sifat fisikokimia NCC yang dihasilkan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Angles, M.N. and A. Dufresne. 2000. Plasticized Starch/Tunicin Whiskers Nanocomposite. 1. Structural Analysis. *Macromolecules* 33: 8344–8353
- Anwar B, B. Bundjali, and I.M. Arcana. 2015. Characteristics of Bacterial Cellulose Produced by *Gluconacetobacter xylinus* from Local Pineapple Peel Waste Juice. Manuscript submitted for publication in *Journal of Polymers and Environment* Number JOOE-D-15-00386.
- Bendahou, A., Y. Habibi, H. Kaddami, and A. Dufresne. 2009. Physico-Chemical Characterization of Palm from *Phoenix-L*, Preparation of Cellulose Whiskers and Natural Rubber-Based Nanocomposites. *Journal of Biobased Materials and Bioenergy* 3: 81–90.
- Bondenson, D., A. Mathew, and K. Oksman. 2006. Optimization of the Isolation of Nanocrystals from Microcrystalline Cellulose by Acid Hydrolysis. *Cellulose* 13: 171–180.
- Brito B.S.L., F.V. Pereira, J.L. Putaux, and B. Jean. 2012. Preparation, Morphology and Structure of Cellulose Nanocrystals from Bamboo Fibers. *Cellulose* 19: 1527–36.
- Castro, C, R. Zuluaga, J.L. Putaux, G. Caro, I. Mondragon, and P. Ganan. 2011. Structural Characterization of Bacterial Cellulose Produced by *Gluconacetobacter swingsii* sp. from Colombian Agroindustrial Wastes. *Carbohydrate Polymers* 84: 96–102.
- Chang, C.P., I.C. Wang, K.J. Hung, and Y.S. Perng. 2010. Preparation and Characterization of Nanocrystalline Cellulose by Acid Hydrolysis of Cotton Linter. *Taiwan Journal for Science* 25(3): 251–64.
- Ciolacu, D., F. Ciolacu, V.I. Popa. 2011. Amorphous Cellulose-Structure and Characterization. *Cellulose Chemistry and Technology* 45(1-2): 13–21.
- Fortunati, E., D. Puglia, M. Monti, L. Peponi, C. Santulli, J.M. Kenny, and L. Torre. 2013. Extraction of Cellulose Nanocrystals from *Phormium tenax* Fibres. *Journal of Polymers and Environment* 21; 319–328.
- Garcia de Rodriguez N.L., W. Thielemans, and A. Dufresne. 2006. Sisal Cellulose Whiskers Reinforced Polyvinyl acetate Nanocomposites. *Cellulose* 13: 261–270.
- George, J., A.S. Bawa, and Siddaramaiah. 2010. Synthesis and Characterization of Bacterial Cellulose Nanocrystals and their PVA Nanocomposites. *Advanced Materials Research* 123–125: 383–386.
- Habibi, Y. and A. Dufresne. 2008. Highly Filled Bionanocomposites from Functionalized Polysaccharide Nanocrystals. *Biomacromolecules* 9:1974–1980.
- Helbert, W., J.Y. Cavaille, and A. Dufresne. 1996. Thermoplastic Nanocomposites Filled with Wheat Straw Cellulose Whiskers. Part I: Processing and Mechanical Behavior. *Polymer Composite* 17:604–11.
- Hirai, A., O. Inui, F. Horii, and M. Tsuji. 2009. Phase Separation Behavior in Aqueous Suspensions of Bacterial Cellulose Nanocrystals Prepared by Sulfuric Acid Treatment. *Langmuir* 25(1):497–502.
- Ioelovich, M. 2012. Optimal Conditions for Isolation of Nanocrystalline Cellulose Particles. *Nanoscience and Nanotechnology* 2(2):9–13.
- Klemm, D., B. Heublein, H.P. Flink, and A. Bohn. 2005. Cellulose: Fascinating Biopolymer and Sustainable Raw Material. *Angewandte Chemie International* 44: 3358–3393.
- Maddahy, N.K., O. Ramezani, and H. Kermanian. 2012. Production of Nanocrystalline Cellulose from Sugarcane Bagasse. Dalam: Proceedings of the 4<sup>th</sup> International Conference on Nanostructures (ICNS4), Kish Island, I. R. Iran: 87–89.

- Moosavi-Nasab, M. dan A.R. Yousefi. 2010. Investigation of Physicochemical Properties of the Bacterial Cellulose Produced by *Gluconacetobacter xylinus* from Date Syrup. *World Academy of Science, Engineering and Technology* 44:1258–1263.
- Nelson, M.L., and T. O'Connor. 1964. Relation of Certain Infrared Bands to Cellulose Crystallinity and Crystal Lattice Type. Part II. A New Infrared Ratio for Estimation of Crystallinity in Cellulose I and II. *Journal of Applied Polymer Science* 8:1325–1341.
- Sacui, I.A., R.C. Nieuwendaal, D.J. Burnett, S.J. Stranick, M. Jorfi, C. Weder, E.J. Foster, R.T. Olsson, and J.W. Gilman. 2014. Comparison of the Properties of Cellulose Nanocrystals and Cellulose Nanofibrils Isolated from Bacteria, Tunicate, and Wood Processed Using Acid, Enzymatic, and Oxidative Methods. *ACS Applied Materials and Interfaces* 6: 6127–6138.
- Salmen, L., M. Akerholm, and B. Hinterstoisser. 2005. Two-Dimensional Fourier Transform Infrared Spectroscopy Applied to Cellulose and Paper. In: Dumitriu S, editor. *Structural Diversity and Functional Versatility*. 1st ed. New York: Marcel Dekker; p. 159–189.
- Shaw, R. 2013. Dynamic Light Scattering Training- Achieving Reliable Nanoparticle Sizing. [www.atascientific.com.au](http://www.atascientific.com.au). (Accessed October 10, 2013).
- Sheltami, R.M., I. Abdullah, I. Ahmad, A. Dufresne, and H. Kargarzadeh. 2012. Extraction of Cellulose Nanocrystals from Mengkuang Leaves (*Pandanus tectorius*). *Carbohydrate Polymers* 88:772–779.
- Silverio, H.A., W.P.F. Neto, N.O. Dantas, and D. Pasquini. 2013. Extraction and Characterization of Cellulose Nanocrystals from Corncob for Application as Reinforcing Agent in Nanocomposites. *Industrial Crops and Products* 44:427–436.
- Zaini, L.H., M. Jonoobi, P.M. Tahir, and S. Karimi. 2013. Isolation and Characterization of Cellulose Whiskers from Kenaf (*Hibiskus cannabinus L.*) Bast Fibers. *Journal of Biomaterialsand Nanobiotechnology* 4: 37–44.
- Zhang, Y., X.B. Lu, C. Gao, W.J. Lv, and J.M. Yao. 2012. Preparation and Characterization of Nano Crystalline Cellulose from Bamboo Fibers by Controlled Cellulose Hydrolysis. *Journal of Fiber Bioengineering and Informatics*.5(3):263–271.