

BIOFILM KONSORSIUM MIKROB *Saccharomyces cerevisiae* DAN *Bacillus megaterium* PENGHASIL ALKOHOL DEHIDROGENASE UNTUK BIOSENSOR ETANOL

LAILA SEPTIANI



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Biofilm Konsorsium Mikrob *Saccharomyces cerevisiae* dan *Bacillus megaterium* Penghasil Alkohol Dehidrogenase untuk Biosensor Etanol” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Januari 2026



Laila Septiani
G4501231043

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

RINGKASAN

LAILA SEPTIANI. Biofilm Konsorsium Mikrob *Saccharomyces cerevisiae* dan *Bacillus megaterium* Penghasil Alkohol Dehidrogenase untuk Biosensor Etanol. Dibimbing oleh DYAH ISWANTINI, WULAN TRI WAHYUNI, dan NOVIK NURHIDAYAT.

Penentuan kadar etanol merupakan aspek krusial dalam industri pangan dan minuman untuk menjamin kualitas, keamanan, serta kepatuhan terhadap regulasi, termasuk batas etanol <0,5% sesuai Fatwa MUI No. 10 Tahun 2018. Berbagai metode analitik konvensional seperti HPLC dan spektroskopi memiliki akurasi tinggi, namun cenderung mahal. Biosensor etanol berbasis enzim alkohol dehidrogenase (ADH) telah menunjukkan kinerja tinggi dengan batas deteksi rendah. Pendekatan berbasis mikroorganisme, khususnya konsorsium *S. cerevisiae* dan *B. megaterium* sebagai penghasil ADH menawarkan keunggulan dalam rentang deteksi yang lebih luas karena perbedaan sensitivitas masing-masing mikrob terhadap konsentrasi etanol. Penelitian sebelumnya menunjukkan biosensor konsorsium mikrob mampu mendeteksi etanol pada rentang 0,2–6% dengan stabilitas 80% selama 7 minggu, namun rentang tersebut masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengembangkan biosensor etanol berbasis konsorsium mikrob dengan rentang deteksi yang lebih luas serta linearitas dan stabilitas tinggi yang setara dengan kinerja enzim ADH.

Metode secara umum yang dilakukan di antaranya penanaman isolat bakteri penghasil enzim alkohol dehidrogenase (ADH), yaitu *B. megaterium* dan *S. cerevisiae* untuk diperoleh kultur mikrob secara murni, lalu dilakukan optimasi pembentukan biofilm yang terdiri atas waktu inkubasi, volume konsorsium, dan nilai absorbansi mikrob. Biofilm yang sudah dilakukan optimasi dibuat untuk imobilisasi di permukaan elektrode *screen printed carbon electrode* (SPCE). Biofilm konsorsium mikrob diaplikasikan pada pengujian kadar etanol konsentrasi 0,2–10% menggunakan metode voltametri siklik untuk dilihat arus oksidasi yang dihasilkan. Pengujian aktivasi enzim murni ADH pada konsentrasi 3×10^{-6} CFU/mL juga dilakukan untuk membandingkan kinerja pada biosensor etanol berbasis konsorsium mikrob dengan enzim murni ADH.

Hasil penelitian menunjukkan konsorsium mikrob *S. cerevisiae* dan *B. megaterium* memiliki pertumbuhan optimal pada nilai absorbansi OD₅₉₅ sebesar 0,7 yang menandai fase *mid* logaritmik pada pembentukan biofilm. Kondisi optimum biofilm dicapai pada pH 7, masa inkubasi selama 10 hari, dan rasio inokulum 1:1 dengan volume 100 µL. Biosensor etanol berbasis konsorsium mikrob yang dikembangkan menunjukkan performa analitik yang baik dengan respon linear pada kisaran 0,2–10% ($R^2 = 0,9926$), limit deteksi (LOD) sebesar 0,0624% dan limit kuantifikasi (LOQ) sebesar 0,2079%, dimana konsentrasi terendah etanol yang masih dapat terukur secara akurat dan presisi sebesar 0,2079%, akurasi hasil pengukuran sebesar 82,50–112,20%, serta stabilitas operasional sebesar 80% selama 10 minggu pada suhu ruang.

Kata kunci: alkohol dehidrogenase (ADH), biosensor, etanol, konsorsium, mikrob



SUMMARY

LAILA SEPTIANI. Biofilm Consortium of *Saccharomyces cerevisiae* and *Bacillus megaterium* Producing Alcohol Dehydrogenase for Ethanol Biosensors. Supervised by DYAH ISWANTINI, WULAN TRI WAHYUNI, and NOVIK NURHIDAYAT.

Determination of ethanol content is a crucial aspect in the food and beverage industry to ensure product quality, safety, and regulatory compliance, including the ethanol limit of <0.5% as stipulated in Fatwa MUI No. 10 of 2018. Various conventional analytical methods, such as high-performance liquid chromatography (HPLC) and spectroscopy, provide high accuracy but are generally costly. Ethanol biosensors based on alcohol dehydrogenase (ADH) enzymes have demonstrated high performance with low detection limits. Microorganism based approaches, particularly consortia of *S. cerevisiae* and *B. megaterium*, offer advantages in achieving a wider detection range due to differences in microbial sensitivity to ethanol concentrations. Previous studies reported that microbial consortium biosensors were able to detect ethanol in the range of 0.2–6% with 80% stability over 7 weeks, although this detection range remains limited. Therefore, this study aims to develop a microbial consortium based ethanol biosensor with a broader detection range, as well as high linearity and stability comparable to those of ADH enzyme based biosensors.

The methods employed included the cultivation of ADH producing microbial isolates, namely *B. megaterium* and *S. cerevisiae*, to obtain pure cultures, followed by optimization of biofilm formation parameters, including incubation time, consortium volume, and microbial absorbance values. The optimized biofilm was immobilized on the surface of a screen-printed carbon electrode (SPCE). The microbial consortium biofilm was applied for ethanol concentration measurements in the range of 0.2–10% using cyclic voltammetry to evaluate the resulting oxidation current. In addition, activation tests using pure ADH enzyme at a concentration of 3×10^{-6} CFU/mL were conducted to compare the performance of the microbial consortium based ethanol biosensor with that of the pure ADH enzyme based biosensor.

The results demonstrated that the *S. cerevisiae* and *B. megaterium* consortium exhibited optimal growth at an absorbance value of $OD_{595} = 0.7$, indicating the mid-logarithmic phase during biofilm formation. Optimal biofilm conditions were achieved at pH 7, an incubation period of 10 days, and a 1:1 inoculum ratio with a volume of 100 μ L, resulting in a detection range of 0.2–10%. The developed microbial consortium based ethanol biosensor exhibited good analytical performance, with high linearity ($R^2 = 0.9926$), a limit of detection (LOD) of 0.0624%, and a limit of quantification (LOQ) of 0.2079%, where the lowest ethanol concentration that could still be measured accurately and precisely was 0.2078. The measurement accuracy ranged from 82.50% to 112.20%, and the operational stability reached 80% over 10 weeks at room temperature.

Keywords : alcohol dehydrogenation (ADH), biosensor, consortium, ethanol, micorbe



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2026¹
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



@Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**BIOFILM KONSORSIUM MIKROB *Saccharomyces cerevisiae* DAN
Bacillus megaterium PENGHASIL ALKOHOL DEHIDROGENASE
UNTUK BIOSENSOR ETANOL**

LAILA SEPTIANI

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister pada
Program Studi Kimia

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**

@Hak cipta milik IPB University

IPB University





@Hak cipta milik IPB University

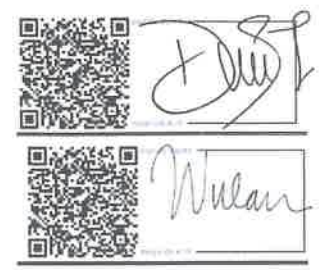
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Judul Tesis : Biofilm Konsorsium Mikrob *Saccharomyces cerevisiae* dan *Bacillus megaterium* Penghasil Alkohol Dehidrogenase untuk Biosensor Etanol
Nama : Laila Septiani
NIM : G4501231043

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Dra. Dyah Iswantini, M.Sc., Agr.
Pembimbing 2:
Dr. Wulan Tri Wahyuni, M.Si.
Pembimbing 3:
Dr. Novik Nurhidayat, M.Sc.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Irmanida Batubara, S.Si., M.Si.
NIP 197508072005012001
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam:
Dr. Berry Juliandi, S.Si., M.Si.
NIP 197807232007011001



Tanggal Ujian: 22 Desember 2025
(tanggal pelaksanaan ujian)

Tanggal Lulus:
(tanggal penandatanganan oleh Dekan FMIPA)



Dokumen ini ditandatangani secara elektronik menggunakan sertifikat dari BSR, silahkan lakukan verifikasi pada dokumen elektronik yang dapat diunduh dengan melakukan scan QR Code

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

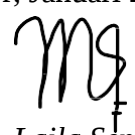
PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Juli 2024 sampai bulan Februari 2025 ini ialah dengan judul “Biofilm Konsorsium Mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dan *Bacillus megaterium* Penghasil Alkohol Dehidrogenase untuk Biosensor Etanol”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada para pembimbing, Prof. Dr. Dra Dyah Iswantini, M.Sc., Agr, Dr. Wulan Tri Wahyuni, M.Si., dan Dr. Novik Nurhidayat, M.Sc, yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada penguji luar komisi Prof. Dr. Akhiruddin, S.Si., M.Si., dan perwakilan program studi Dr. Henny Purwaningsih, S.Si., M.Si. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada ketua kelompok riset di Laboratorium Pemulihan Mikrobiologis, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) Cibinong, Dr. Bapak Nurhidayat yang telah memberi izin penelitian, beserta asisten riset, dan penulis juga mengucapkan terima kasih kepada analis Laboratorium Bersama Departemen Kimia IPB University yang telah membantu selama pengumpulan data. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada keluarga yang telah memberikan dukungan, doa, dan kasih sayangnya dalam setiap waktunya.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Januari 2026


Laila Septiani

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xi
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	3
II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Mikrob Penghasil Enzim Alkohol Dehidrogenase (ADH)	4
2.2 Konsorsium Mikrob	5
2.3 <i>Optical Density</i> (OD) pada Mikrob	5
2.4 Imobilisasi Sel Mikrob dan Biofilm	6
2.5 Biosensor Etanol Menggunakan Konsorsium Mikrob	8
III METODE	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Prosedur Kerja	10
3.4 Analisis data	14
IV HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Kultur Bakteri Penghasil Enzim Alkohol Dehidrogenase (ADH)	15
4.2 Pemanenan Kultur Bakteri Penghasil Enzim ADH	16
4.3 Penentuan Jumlah Bakteri Berdasarkan Nilai Absorbansi	19
4.4 Karakterisasi Bakteri : Uji Pewarnaan Gram	20
4.5 Optimasi Biofilm Konsorsium Mikrob <i>S. cerevisiae</i> dan <i>B. megaterium</i>	21
4.6 Respon Elektrokimia Enzim Murni Alkohol Dehidrogenase (ADH)	24
4.7 Kinerja Analitik Biosensor Etanol	24
4.8 Analisis Sampel Minuman Alkohol Menggunakan Biosensor Etanol dan Kromatografi Gas (GC)	26
V SIMPULAN DAN SARAN	29
5.1 Simpulan	29
5.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
RIWAYAT HIDUP	42