

IMOBILISASI BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN POTENSIAL ANTIBAKTERI DALAM TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)

ANGIE ANGELICA



**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**





PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis dengan judul “Imobilisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Potensial Antibakteri dalam Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)” 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 2025

Angie Angelica
G3501222024

- 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

ANGIE ANGELICA. Imobilisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Potensial Antibakteri dalam Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS). Dibimbing oleh IMAN RUSMANA, HANS WIJAYA, dan NISA RACHMANIA MUBARIK.

Biosurfaktan merupakan senyawa yang bersifat ampifilik karena memiliki sisi hidrofilik dan hidrofobik. Senyawa ini memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan dua molekul yang berbeda polaritasnya. Berbagai pemanfaatan produk biosurfaktan telah dilakukan, akan tetapi produksi biosurfaktan dalam skala besar masih menjadi kendala karena hasil produksinya yang rendah. Oleh karena itu, dibutuhkan metode untuk meningkatkan efektivitas produksi biosurfaktan. Salah satu metode yang dapat digunakan ialah imobilisasi bakteri.

Imobilisasi merupakan penjebakan bakteri dalam matriks berupa padatan sehingga tidak diperlukan prekultuur bakteri berulang untuk proses produksi. Proses ini dapat menurunkan biaya dan waktu produksi biosurfaktan. Matriks imobilisasi penting untuk diperhatikan dalam proses imobilisasi. Alginat banyak digunakan dalam imobilisasi sel sebagai agen bioremediasi namun biaya untuk imobilisasi menggunakan alginat cukup tinggi. Penggunaan matriks berupa biomassa limbah pertanian dapat menjadi pilihan. Tandan kosong kelapa sawit (TKKS) digunakan karena termasuk limbah pertanian yang berlimpah jumlahnya dan belum dimanfaatkan dengan baik. Selain itu, TKKS dapat juga berperan sebagai substrat bagi pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan. Penelitian ini bertujuan mengukur aktivitas antibakteri, mengkarakterisasi senyawa biosurfaktan, dan mengimobilisasi bakteri penghasil biosurfaktan dalam TKKS.

Bakteri PS109 yang diisolasi dari media *Glucose Soybean Meal* (GSB) diuji aktivitas biosurfaktan dan antibakterinya terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasilnya, isolat tersebut mampu menghasilkan zona penyebaran pada *oil-spreading test*, penyebaran bentuk tetesan pada *drop-collapse test*, dan zona bening pada uji hemolisis. Isolat ini juga menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ketika ditumbuhkan pada media yang mengandung TKKS selama tujuh hari dan supernatannya diekstraksi menggunakan etil asetat. Identifikasi bakteri menunjukkan kemiripan terhadap *Pseudomonas aeruginosa* NBRC 12689. Bakteri *P. aeruginosa* memang telah diketahui kemampuannya dalam memproduksi biosurfaktan kelompok glikolipida, yaitu rhamnolipidaa. Hal ini terbukti dari hasil kromatografi lapis tipis menggunakan eluen kloroform, metanol, dan air yang menunjukkan noda yang sejajar dengan standar rhamnolipidaa pada Rf 0,58 dan 0,35 untuk monorhamnolipidaa dan dirhamnolipidaa. Gugus-gugus yang menjadi penciri rhamnolipidaa pada analisis FTIR (*Fourrier Transfrom-Infrared*) di antaranya terdapat gugus hidroksil (-OH), karbonil (C=O), dan ikatan glikosidik (C – O – C).

Imobilisasi dalam TKKS selama empat siklus dengan masing-masing siklus 7 hari menunjukkan bahwa bakteri PS109 mampu melekat pada TKKS. Aktivitas biosurfaktan kembali diuji dan dihasilkan seluruh uji positif namun aktivitasnya menurun setelah siklus kedua, kecuali pada indeks emulsifikasi yang terus meningkat hingga siklus keempat. Penghitungan jumlah sel juga menunjukkan bahwa bakteri tetap melekat dan terus bertumbuh setelah terjadi pencucian sel.



Jumlah sel mencapai kestabilan pada siklus ketiga dan keempat yang ditunjukkan dengan penempelan sel pada observasi *Scanning Electron Microscope* (SEM).

Kata kunci: imobilisasi, penempelan, *Pseudomonas aeruginosa*, rhamnolipida, tandan kosong kelapa sawit

- 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.



SUMMARY

ANGIE ANGELICA. Whole Cell Immobilization of Antibacterial Biosurfactant Producer Bacteria in Oil Palm Empty Fruit Bunch (OPEFB). Supervised by IMAN RUSMANA, HANS WIJAYA, and NISA RACHMANIA MUBARIK.

Biosurfactants are amphiphilic compounds because they have both hydrophilic and hydrophobic sides. These compounds have the ability to reduce surface tension between two molecules of differing polarities. Although biosurfactants have been utilized in various applications, large-scale production remains a challenge due to their low yields. Therefore, methods are needed to improve the efficiency of biosurfactant production. One method that potential to be used is bacterial immobilization.

Immobilization involves bacteria trapped in a solid matrix and eliminated the need for repeated bacterial precultures during the production process. This process can reduce the cost and time required for biosurfactant production. The choice of immobilization matrix is critical in this process. Alginate is widely used in cell immobilization as a bioremediation agent, but the cost of using alginate for immobilization is relatively high. Using agricultural waste biomass as a matrix is a viable alternative. Oil palm empty fruit bunches (OPEFB) are used because they are abundant agricultural waste that has not been fully utilized. Moreover, OPEFB can also serve as a substrate for the growth of biosurfactant-producing bacteria. This study aims to measure antibacterial activity, characterize biosurfactant compounds, and immobilize biosurfactant-producing bacteria in OPEFB.

The PS109 bacteria, isolated from Glucose Soybean Meal (GSB) medium, were tested for biosurfactant and antibacterial activities against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The results showed that the isolate produced a spreading zone in the oil-spreading test, droplet collapse in the drop-collapse test, and a clear zone in the hemolysis test. The isolate also exhibited antibacterial activity against *S. aureus* when grown on a medium containing OPEFB for seven days, with the supernatant extracted using ethyl acetate. Bacterial identification revealed similarities to *Pseudomonas aeruginosa* NBRC 12689. *P. aeruginosa* is known for its ability to produce glycolipid biosurfactants, specifically rhamnolipids. This was confirmed by thin-layer chromatography using a chloroform, methanol, and water eluent, which showed spots corresponding to rhamnolipid standards at R_f 0.58 and 0.35 for monorhamnolipid and dirhamnolipid, respectively. FTIR (Fourier Transform Infrared) analysis indicated the presence of characteristic rhamnolipid groups, including hydroxyl (-OH), carbonyl (C=O), and glycosidic bonds (C-O-C).

Immobilization PS109 bacteria in OPEFB over four cycles (each cycle lasting for seven days) demonstrated that PS109 bacteria could attach to OPEFB. Biosurfactant activity tests yielded positive results throughout, although activity decreased after the second cycle, except for the emulsification index, which continued to increase through the fourth cycle. Cell count analysis showed that the bacteria remained attached and continued to grow after cell washing. The cell count stabilized during the third and fourth cycles, as confirmed by cell adhesion observed through Scanning Electron Microscope (SEM) analysis.

Keywords: attachment, immobilization, oil palm empty fruit bunch, *Pseudomonas aeruginosa*, rhamnolipida

@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.



@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.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2025
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.

IMOBILISASI BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN POTENSIAL ANTIBAKTERI DALAM TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT (TKKS)

ANGIE ANGELICA

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

**PROGRAM STUDI MIKROBIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2025**



@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 : Imobilisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Potensial Antibakteri dalam Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)
Nama : Angie Angelica
NIM : G3501222024

@Hak cipta milik IPB University

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Iman Rusmana, M.Si.



Pembimbing 2:
Dr. Eng. Hans Wijaya, M.T.



Pembimbing 2:
Dr. Dra. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi Mikrobiologi
Prof. Dr. Dra. Anja Meryadini, MS.
NIP 196203271987032001



Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Dr. Berry Juliandi, S.Si, M.Si.
NIP 197807232007011001



Tanggal Ujian:
(20 Desember 2024)

Tanggal Lulus:



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 haturkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan studi dalam program Magister Mikrobiologi. Topik seminar yang dipilih adalah Keteknikan, Teknologi Informasi, dan Perencanaan. Judul dari penelitian ini adalah “Imobilisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Potensial Antibakteri dalam Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)”. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Desember 2022 hingga April 2024. Penulisan dan penyusunan tesis ini tidak terlepas dari bantuan dan arahan dari berbagai pihak. Penulis bermaksud mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Iman Rusmana, M.Si. sebagai ketua komisi pembimbing, Dr. Eng. Hans Wijaya, M.T. dan Dr. Dra. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si. sebagai anggota komisi pembimbing yang telah memberikan waktu, tenaga, pemikiran, serta kasih sayang selama membimbing proses penelitian dan penulisan.
2. Dr. Syamsul Falah, S.Hut., M.Si. sebagai dosen penguji luar komisi pembimbing dan Dr. Ir. Erfiani, M.Si. sebagai moderator seminar hasil yang telah memberikan saran dan masukan untuk meningkatkan kualitas tesis ini.
3. Prof. Dr. Dra. Triadiati, M.Si. sebagai perwakilan dari Program Studi dalam pelaksanaan ujian tesis yang telah mengevaluasi penyusunan tesis.
4. Prof. Dr. Dra. Anja Meryadini, M.S. sebagai ketua Program Studi Mikrobiologi serta dosen-dosen pengampu mata kuliah yang telah mendukung dan mengarahkan serta memberikan ilmu selama perkuliahan hingga akhir masa studi.
5. Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) untuk beasiswa BARISTA (Bantuan Riset Talenta) dan fasilitas laboratorium yang boleh penulis gunakan selama proses penelitian.
6. Badan Pengelola Dana Perkebunan Kelapa Sawit (BPDPKS) untuk pendanaan penelitian yang diberikan.
7. Keluarga terkasih, terkhusus bapak Jhonny Mangasi Manurung, ibu Tiara Odor Simanjuntak, kakak Imanuella Hot Taruli, dan adik Petra Rivaldo Anugerah untuk dukungan dan kasih yang diberikan selama perjalanan di Sekolah Magister Mikrobiologi.
8. Rekan-rekan di Program Studi Mikrobiologi, Laboratorium Genomik (BRIN), dan Perkantas Bogor, serta saudara saudari yang senantiasa mendampingi selama proses studi dan penelitian.

Penulis berharap kiranya karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan, khususnya di bidang Mikrobiologi.

Bogor, Januari 2025

Angie Angelica



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Biosurfaktan	3
2.2 Imobilisasi Bakteri	6
2.3 Tandan Kosong Kelapa Sawit (TKKS)	8
METODE	9
3.1 Kerangka Penelitian	9
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.3 Alat dan Bahan	10
3.4 Prosedur Kerja	10
HASIL DAN PEMBAHASAN	13
4.1 Karakteristik isolat dan aktivitas biosurfaktan isolat PS109	13
4.2 Aktivitas antibakteri	14
4.3 Identifikasi bakteri PS109	15
4.4 Karakterisasi ekstrak kasar biosurfaktan	17
4.5 Aktivitas biosurfaktan setelah imobilisasi	19
SIMPULAN DAN SARAN	24
5.1 Simpulan	24
5.2 Saran	24
DAFTAR PUSTAKA	25
LAMPIRAN	31
RIWAYAT HIDUP	34

DAFTAR TABEL

1	Mikrob penghasil biosurfaktan dan aplikasinya	3
2	Imobilisasi mikrob pada berbagai matriks imobilisasi	6
3	Aktivitas antibakteri ekstrak bakteri PS109 yang ditumbuhkan dalam media TKKS dan LB dengan pelarut ekstraksi MeOH dan EA terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>	15
4	Hasil BlastN sekuens 16S rRNA isolat PS109 pada NCBI Genebank	17
5	Analisis gugus fungsi ekstrak kasar menggunakan FTIR dengan pembandingan berbagai sumber pustaka	Error! Bookmark not defined.
6	Aktivitas biosurfaktan setelah proses imobilisasi dalam TKKS selama empat siklus, dengan setiap siklus dilakukan selama tujuh hari	20

DAFTAR GAMBAR

1	Struktur rhamnolipida berdasarkan jumlah gugus rhamnosa, yaitu mono-rhamnolipida (a) dan di-rhamnolipida (b) (Li 2017)	4
2	Struktur umum lipopeptida: surfaktin (a), iturin (b), fengycin (c), dan lichenysin (d) (Carolin <i>et al.</i> 2021)	5
3	Struktur asam spikulisporat (Ishigami <i>et al.</i> 2013)	5
4	Jenis-jenis imobilisasi bakteri berdasarkan ikatan yang terbentuk, yaitu adsorpsi (A), ikatan kovalen (B), penjebakan sel (C), dan enkapsulasi (D) (Bouabidi <i>et al.</i> 2019)	7
5	Diagram alir tahapan penelitian	9
6	Identifikasi morfologi mikroskopis bakteri PS109 dengan menggunakan pewarnaan Gram sederhana dengan perbesaran 1000x	13
7	Pengujian biosurfaktan dengan metode <i>oil spreading-test</i> . A) akuades sebagai kontrol negatif, B) supernatan bebas sel bakteri PS109, dan C) larutan sabun 10% sebagai kontrol positif. Aktivitas biosurfaktan ditandai dengan terbentuknya zona bening sebagai zona penyebaran oli (berwarna coklat kehitaman)	13
8	Hasil <i>drop collapse-test</i> pada supernatan bebas sel bakteri PS109 (CFS) dengan bentuk tetesan menyebar seperti larutan sabun 10% (K+) sementara tetesan akuades sebagai kontrol negatif (K-) tidak mengalami penyebaran	14
9	Aktivitas hemolisis bakteri PS109 yang ditandai dengan terbentuknya zona bening yang menyerupai warna media asal	14
10	Pita DNA PS109 hasil elektroforesis pada agarosa 1,2% dan TAE 0,5x (w/v) yang disejajarkan dengan DNA ladder 1 kb	16
11	Konstruksi pohon filogenetik dengan metode <i>Maximum Likelihood bootstrap</i> 1000x menggunakan <i>outgroup Bacillus pumilus</i> NRRL NRS-272 (NR_116191.1)	16
12	Noda hasil KLT ekstrak kasar PS109 pada plat alumunium dengan dua metode ekstraksi ekstrak TKKS-EA (etil asetat) (A) dan TKKS-MeOH	

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 mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



13	(metanol) (B) terhadap pembanding berupa standar Rhamnolipida 95% (AGAE, Merck) (S)	17
14	Ekstrak kasar kultur PS109 dengan pelarut etil asetat yang dianalisis gugus fungsi menggunakan FTIR pada panjang gelombang 4000 cm ⁻¹ hingga 400 cm ⁻¹	18
15	Perubahan aktivitas biosurfaktan (atas) dan stabilitas kultur (bawah) pada setiap siklus imobilisasi dalam tandan kosong kelapa sawit (TKKS)	21
16	Tandan kosong kelapa sawit tanpa imobilisasi pada perbesaran 2000x (kiri) dan 5000x (kanan) yang diamati dengan metode <i>High Vacuum</i> 10.000 kV	22
17	Tandan kosong kelapa sawit hasil imobilisasi yang diamati dengan SEM pada perbesaran 3500x (kiri) dan 5000x (kanan) dengan metode <i>High Vacuum</i> 10.000 kV. Tanda panah berwarna putih menunjukkan bakteri yang menempel pada TKKS	22

DAFTAR LAMPIRAN

1	Hasil uji antibakteri terhadap <i>E. coli</i> dan <i>S. aureus</i> dengan menggunakan ekstrak isolat PS109 (1 mg/ mL dalam MeOH 50%) yang ditumbuhkan pada media (A) TKKS dengan bakteri <i>E. coli</i> , (B) LB dengan bakteri <i>E. coli</i> , (C) TKKS dengan bakteri <i>S. aureus</i> , dan (D) LB dengan bakteri <i>S. aureus</i> serta pelarut ekstraksi menggunakan MeOH dan EA. Kode ekstrak: 1 EA-100mg/mL, 2 EA-50mg/mL, 3 MeOH-100mg/mL, 4 MeOH-50mg/mL, K+ kloramfenikol 1mg/mL, dan K- MeOH 50%	32
2	Sekuens bakteri PS109 yang disejajarkan pada NCBI	33