

**PRODUKSI BIOSURFAKTAN
OLEH BAKTERI *Bacillus pumilus* CHN 27
MENGGUNAKAN VARIASI SUMBER NITROGEN**

Skripsi

**Disusun untuk memenuhi salah satu syarat
memperoleh gelar Sarjana Sains**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
2024**

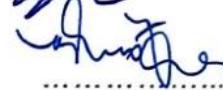
LEMBAR PENGESAHAN

PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH BAKTERI *Bacillus pumilus* CHN 27 MENGGUNAKAN VARIASI SUMBER NITROGEN

Nama : Sintia Aulia Azka
Nomor Registrasi : 1308619006



Wakil Penanggung Jawab

Wakil Dekan I : Dr. Esmar Budi, S.Si., MT. NIP. 19720728 199903 1 002		5/8 2024
Ketua : Dr. Ratna Komala, M.Si. NIP. 19640815 198903 2 002		2/8 2024
Sekretaris/Penguji II : Rizky Priambodo, M.Si. NIP. 19891223 201903 1 014		5/8 2024

Anggota

Pembimbing I : Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si. NIP. 19660316 199203 2 001		1/8 2024
Pembimbing II : Ns. Sri Rahayu, M.Biomed. NIP. 19790925 200501 2 002		30/07 2024
Penguji I : Dr. Dalia Sukmawati, M.Si. NIP. 19730914 200604 2 001		2/08/2024

Dinyatakan lulus ujian skripsi pada tanggal 16 Juli 2024

LEMBAR PERNYATAAN KEASILAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta:

Nama : Sintia Aulia Azka

Nomor Registrasi : 1308619006

Program Studi : Biologi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi dengan judul "**Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Bacillus pumilus* CHN 27 Menggunakan Variasi Sumber Nitrogen**" yang disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains dari Program Studi Biologi, Universitas Negeri Jakarta adalah:

1. Dibuat dan diselesaikan oleh saya sendiri, berdasarkan data yang diperoleh dari hasil penelitian pada bulan Januari – Juni 2024.
2. Bukan merupakan hasil duplikasi skripsi yang pernah dibuat orang lain atau menjiplak hasil karya orang lain.

Jika dikemudian hari ditemukan sebagian besar skripsi ini bukan hasil karya saya sendiri dalam bagian-bagian tertentu, saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya sanding dan sanksi-sanksi lainnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Jakarta, 24 Juli 2024



Sintia Aulia Azka



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA
UPT PERPUSTAKAAN
Jalan Rawamangun Muka Jakarta 13220
Telepon/Faksimili: 021-4894221
Laman : lib.unj.ac.id

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai sivitas akademika Universitas Negeri Jakarta, yang bertanda tangan di bawah ini, saya:

Nama : Sintia Aulia Azka

NIM : 1308619006

Fakultas/Prodi : MIPA/Biologi

Alamat email : sintiaazka1401@gmail.com

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif atas karya ilmiah:

Skripsi Tesis Disertasi Lain-lain (.....)

yang berjudul :

Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Bacillus pumilus* CHN 27 Menggunakan Variasi Sumber Nitrogen.

Dengan Hak Bebas Royalti Non-Ekslusif ini UPT Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta berhak menyimpan, mengalihmediakan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), mendistribusikannya, dan menampilkan/mempublikasi kannya di internet atau media lain secara *fulltext* untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta izin dari saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan atau penerbit yang bersangkutan.

Saya bersedia untuk menanggung secara pribadi, tanpa melibatkan pihak Perpustakaan Universitas Negeri Jakarta, segala bentuk tuntutan hukum yang timbul atas pelanggaran Hak Cipta dalam karya ilmiah saya ini.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Jakarta, 16 Juli 2024

Sintia Aulia Azka

KATA PENGANTAR

Kesyukuran penulis panjatkan pada Allah yang telah memberi kemampuan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Bacillus pumilus* CHN 27 Menggunakan Variasi Sumber Nitrogen". Skripsi ini dibuat sebagai syarat mendapatkan gelar Sarjana Sains dalam Program Studi Biologi di Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta.

Penulis mengatakan terimakasih kepada banyak pihak yang sudah terlibat dan mendukung kelancaran dalam penyusunan skripsi, sehingga dapat terselesaikan dengan baik tanpa adanya hambatan yang berarti. Penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada Program Studi Biologi UNJ yang telah mewadahi dan memfasilitasi penulis hingga menyelesaikan studinya. Terimakasih juga penulis sampaikan kepada Ibu Dr. Tri Handayani Kurniati, M.Si. selaku Pembimbing I dan Ibu Ns. Sri Rahayu, M. Biomed. selaku Pembimbing 2 yang telah memberikan arahan, memfasilitasi, serta mendampingi penulis dalam penyusunan skripsi. Penulis juga menyampaikan ucapan terimakasih kepada Ibu Annisa Wulan Agus Utami, M.Si. serta Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si. selaku Pengaji I dan Bapak Rizky Priambodo, M.Si. selaku Pengaji II, serta Ibu Dr. Ratna Komala, M.Si. selaku ketua sidang yang telah memberikan saran serta masukkan sehingga penyusunan skripsi menjadi lebih baik. Terimakasih juga penulis sampaikan kepada Bapak Dr. Adisyahputra, MS. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran, arahan, serta motivasi selama penulis melaksanakan perkuliahan di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Terimakasih juga kepada Ibu Dr. Dalia Sukmawati, M.Si selaku Koordinator Program Studi Biologi yang telah memberikan pengarahan hingga penyelesaian studi.

Rasa hormat dan ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada orang tua penulis yaitu Bapak Sunarso dan Ibu Laelati yang telah memberikan motivasi, dukungan moral, dana dan do'a. Ucapan terimakasih juga penulis sampaikan kepada Ibu Deselina, Kak Alika, Kak Leni, dan seluruh staf Laboratorium Mikrobiologi yang telah membantu penulis selama penelitian skripsi berlangsung. Terimakasih kepada Afifah, Oryza, Dheandra, Ali, Sheyla, Famira, Kak Saskia, Ka Elizabeth,

Kak Zaki, serta teman-teman penelitian Mikrobiologi lainnya yang telah bersama-sama dan membantu selama proses penelitian skripsi di laboratorium. Terimakasih kepada Rara, Syifa, dan teman-teman PPM Sulthon Aulia lain yang telah menjadi teman berjuang. Terimakasih kepada teman-teman Biologi angkatan 2019 yang telah memberikan semangat dan dukungannya.

Penulis menyadari dalam pembuatan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan. Dengan demikian, penulis sangat terbuka untuk menerima saran dan masukan untuk hasil penulisan skripsi yang lebih baik. Penulis mengharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang membacanya.

Jakarta, 16 Juli 2024



Sintia Aulia Azka



ABSTRAK

SINTIA AULIA AZKA. Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Bacillus pumilus* CHN 27 Menggunakan Variasi Sumber Nitrogen. Skripsi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. Juli 2024.

Surfaktan merupakan senyawa aktif permukaan yang memiliki struktur amfifilik yaitu mengandung bagian hidrofobik dan hidrofilik pada satu molekul. Aplikasi surfaktan dimanfaatkan dalam berbagai bidang. Namun surfaktan secara umum berasal dari bahan tidak terbarukan sehingga berdampak negatif pada organisme dan lingkungan. Biosurfaktan dapat mengatasi dampak negatif penggunaan surfaktan. Biosurfaktan merupakan surfaktan alami dari hewan, tumbuhan, dan mikroba. Bakteri *B. pumilus* CHN 27 merupakan penghasil biosurfaktan yang diisolasi dari tanah tercemar minyak di Teluk Jakarta. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sumber nitrogen (amonium nitrat [NH_4NO_3], natrium nitrat [NaNO_3], urea [$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$], *yeast extract*) dan waktu inkubasi (hari ke-1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7) terhadap pertumbuhan *B. pumilus* CHN 27, serta produksi dan aktivitas biosurfaktan yang dihasilkan. Parameter uji terdiri dari jumlah sel bakteri (CFU/mL), produk biosurfaktan kasar (g/L), nilai tegangan permukaan (mN/m) dan nilai emulsifikasi (%). Hasil penelitian menunjukkan bahwa sumber nitrogen dan waktu inkubasi berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri *B.pumilus* CHN 27. Perlakuan dengan penambahan *yeast extract* memberikan nilai pertumbuhan bakteri *B.pumilus* CHN 27 tertinggi. Produk biosurfaktan kasar diperoleh secara optimal dengan perlakuan penambahan *yeast extract* pada hari ke-5 sebesar 0,75 g/L. Nilai tegangan permukaan diperoleh secara optimal dengan perlakuan penambahan *yeast extract* pada hari ke-5 sebesar 27,66 mN/m. Nilai emulsifikasi tertinggi diperoleh dengan perlakuan penambahan *yeast extract* pada hari ke-6 sebesar 73,89%. Berdasarkan hasil yang diperoleh, biosurfaktan yang dihasilkan *B. pumilus* CHN 27 dengan penambahan *yeast extract* diharapkan mampu diaplikasikan pada berbagai bidang, seperti pengolahan makanan dan pertanian.

Kata kunci : *Produk kering biosurfaktan, Aktivitas permukaan, Indeks emulsifikasi*

ABSTRACT

SINTIA AULIA AZKA. Biosurfactant Production by *Bacillus pumilus* CHN 27 Using Variations of Nitrogen Sources. Undergraduate Thesis, Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, State University of Jakarta. July 2024.

Surfactants as an amphiphilic structure, containing hydrophobic and hydrophilic parts. Surfactants are used for many purposes. Surfactants are generally made from non-renewable materials, so they give negative impact to organisms and their environments. Biosurfactants are natural surfactants from animals, plants, and microbes as an alternative to synthetic surfactants. *B. pumilus* CHN 27 is biosurfactant producing bacteria isolated from oil-polluted soil in Teluk Jakarta. This study aims to determine the effect of nitrogen sources (ammonium nitrate [NH_4NO_3], sodium nitrate [NaNO_3], urea [$\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$] and yeast extract) and fermentation time (days 1, 2, 3, 4, 5, 6, and 7) on the growth of *B. pumilus* CHN 27, to discover the production and activity of biosurfactant. The study consist of measuring the number of bacterial cells, biosurfactant production, and biosurfactant activity by measuring surface tension and emulsification index. The results showed that nitrogen sources and fermentation time affected the growth of *B. pumilus* CHN 27 bacteria. Yeast extract as nitrogen source on day 1 to day 6 showed the highest growth in the exponential phase. The crude biosurfactant product was optimally produced in addition of yeast extract on day 5, (0,75 g/L). The surface tension reducing activity was optimally produced in the addition of yeast extract on day 5 (27,66 mN/m). The highest emulsification index was produced in the addition of yeast extract on day 6 (73, 89%). Based on the results, the biosurfactant from *B. pumilus* CHN 27 is expected to be applied in various purposes, such as food processing and agriculture.

Keywords :Crude biosurfactant, Surface activity, Emulsification index

DAFTAR ISI

Halaman

LEMBAR PENGESAHAN

..... Err

or! Bookmark not defined.

LEMBAR PERNYATAAN KEASILAN SKRIPSI ii

LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

..... Err

or! Bookmark not defined.

KATA PENGANTAR iv

ABSTRAK vii

ABSTRACT viii

DAFTAR ISI ix

DAFTAR TABEL xi

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR LAMPIRAN xiv

BAB I. PENDAHULUAN 1

A. Latar Belakang 1

B. Perumusan Masalah 4

C. Tujuan Penelitian 4

D. Manfaat Penelitian 4

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA 5

A. Surfaktan 5

B. Biosurfaktan 6

C. Karakteristik Biosurfaktan 8

D. Bakteri *Bacillus* Penghasil Biosurfaktan 9

E. Faktor yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan 11

F. Pengukuran Aktivitas Biosurfaktan 13

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN 16

A. Tempat dan Waktu Penelitian 16

B. Metode Penelitian 16

1. Isolat Bakteri 17

2. Alat dan Bahan 17

3. Prosedur Penelitian 18

3.1 Pembuatan Media 19

3.2 Pembuatan Inokulum Bakteri 19

3.3 Preparasi Sumber Karbon berupa Minyak Goreng Bekas 19

3.4 Produksi Biosurfaktan oleh *B. pumilus* CHN27 19

3.5 Ekstraksi Biosurfaktan 20

3.6 Pembuatan Kurva Standar Bakteri 20

3.7 Pengukuran Pertumbuhan Bakteri 22

3.8 Uji Aktivitas Biosurfaktan 22

3.8.1 Pengukuran Tegangan Permukaan 22

3.8.2 Pengukuran Indeks Emulsifikasi (E24) 22

C. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data.....	23
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
A. Pertumbuhan Sel Bakteri <i>Bacillus pumilus</i> CHN 27	24
B. Produksi Biosurfaktan Kasar oleh <i>Bacillus pumilus</i> CHN 27	28
C. Aktivitas Biosurfaktan oleh <i>Bacillus pumilus</i> CHN 27	32
1. Nilai Tegangan Permukaan.....	32
2. Nilai Indeks Emulsifikasi.....	36
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	41
A. Kesimpulan.....	41
B. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	54
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	61



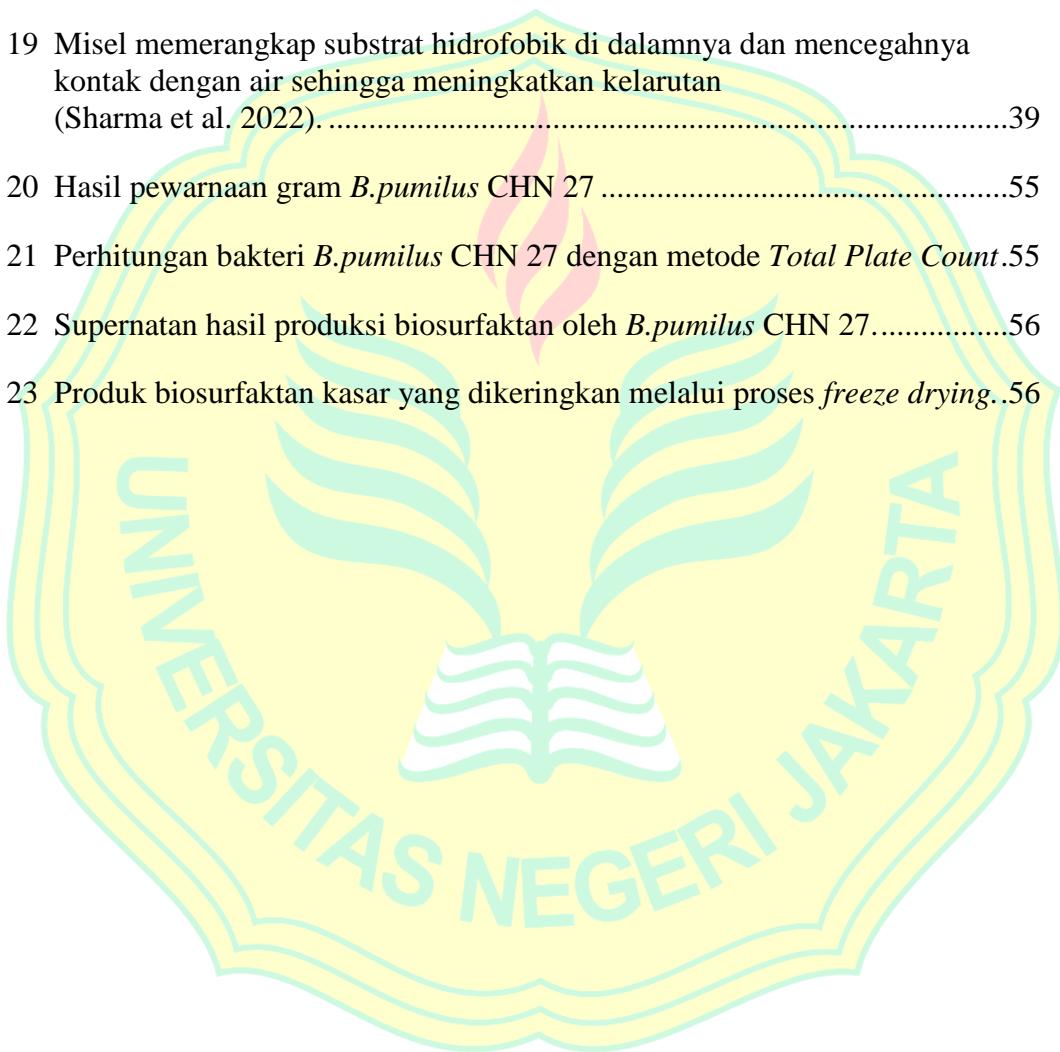
DAFTAR TABEL

	Halaman
1 Kombinasi perlakuan penelitian.....	17
2 Hasil uji ANAVA dua arah pengaruh sumber nitrogen dan waktu inkubasi terhadap berat kering biosurfaktan yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27.	28
3 Hasil uji DMRT produk biosurfaktan kasar yang dihasilkan oleh bakteri <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.	29
4 Hasil ANAVA dua arah pengaruh sumber nitrogen dan waktu inkubasi terhadap nilai tegangan permukaan yang dihasilkan oleh <i>B. pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.	32
5 Hasil uji DMRT nilai tegangan permukaan biosurfaktan yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.....	33
6 Hasil uji ANAVA dua arah pengaruh sumber nitrogen dan waktu inkubasi terhadap nilai emulsifikasi biosurfaktan yang dihasilkan oleh <i>B. pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.	36
7 Hasil uji DMRT nilai emulsifikasi biosurfaktan yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.	37
8 Pengukuran pertumbuhan <i>B. pumilus</i> CHN 27 dalam pembuatan kurva standar.....	57
9 Pertumbuhan <i>B. pumilus</i> CHN 27 pada variasi sumber nitrogen dan waktu inkubasi berdasarkan nilai OD (<i>Optical Density</i>).	57
10 Pertumbuhan <i>B. pumilus</i> CHN 27 pada variasi sumber nitrogen dan waktu inkubasi berdasarkan nilai log CFU/mL.	57
11 Statistik deskriptif data produk biosurfaktan kasar yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada variasi sumber nitrogen dan waktu inkubasi.....	58
12 Statistik deskriptif data tegangan permukaan biosurfaktan yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada variasi sumber nitrogen dan waktu inkubasi.	59
13 Statistik deskriptif data nilai emulsifikasi biosurfaktan yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada variasi sumber nitrogen dan waktu inkubasi.	60

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1 Struktur molekul surfaktan (Sharma et al., 2022).....	5
2 Klasifikasi surfaktan berdasarkan bagian hidrofilik (Zakharova et al., 2018)	5
3 Pembentukan emulsifikasi oleh surfaktan pada lingkungan polar dan nonpolar (Rapp, 2017).	9
4 <i>Bacillus pumilus</i> perbesaran 10.000x (Fitriandini et al., 2017).	10
5 Hasil penapisan <i>B.pumilus</i> CHN27, A: uji hemolitik positif (b) dan negatif (a); B: hasil positif menunjukkan tetesan melebar pada <i>drop collapse assay</i> (a) dibandingkan hasil negatif (b); C: hasil positif menunjukkan zona jernih pada <i>oil displacement test</i> (a) (Kurniati, 2016). ..	11
6 Skema penurunan tegangan permukaan setelah penambahan biosurfaktan (Free, 2016).....	14
7 Bagan alir penelitian	18
8 Contoh kurva standar bakteri.	21
9 Grafik kurva standar bakteri <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada panjang	24
10 Pertumbuhan <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.	25
11 Bagan pemanfaaan sumber nitrogen di dalam sel bakteri. Nitrat dan urea terlebih dahulu diubah menjadi ammonium. Nitrogen pada asam amino dapat langsung dimanfaatkan oleh sel (Gupta & Gupta, 2021).	27
12 Jalur biosintesis glutamat dan glutamin, a: jalur GDH; b: jalur GS-GOGAT (Wally et al., 2013).....	27
13 Produk biosurfaktan kasar yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.....	31
14 Biosintesis biosurfaktan lipopeptida jenis surfaktin serta domain yang terlibat. a: penggabungan lipid ke asam amino pertama; A: domain adenilasi; PCP: Protein Pembawa Peptidil; C:domain kondensasi; E: domain modifikasi; TE: domain tioesterase; b: pelepasan biosurfaktan lipopeptida (Kubicki et al., 2019).	31
15 Nilai tegangan permukaan biosurfaktan yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada media MSM dengan variasi sumber nitrogen.	35

16 Skema penurunan tegangan permukaan dengan penambahan molekul biosurfaktan (Eka, 2016)	36
17 Nilai emulsifikasi yang dihasilkan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27 pada sumber nitrogen berbeda38	
18 Pengukuran indeks emulsifikasi biosurfaktan pada sumber nitrogen berbeda; A: Kontrol, B: Amonium nitrat, C: Natrium nitrat, D: Urea, E: <i>Yeast extract</i> , menggunakan kontrol positif berupa SDS 1% (K+) dan kontrol negatif berupa akuades (K-).....39	
19 Misel memerangkap substrat hidrofobik di dalamnya dan mencegahnya kontak dengan air sehingga meningkatkan kelarutan (Sharma et al. 2022)	39
20 Hasil pewarnaan gram <i>B.pumilus</i> CHN 27	55
21 Perhitungan bakteri <i>B.pumilus</i> CHN 27 dengan metode <i>Total Plate Count</i> .55	
22 Supernatan hasil produksi biosurfaktan oleh <i>B.pumilus</i> CHN 27.....56	
23 Produk biosurfaktan kasar yang dikeringkan melalui proses <i>freeze drying</i> .56	



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1 Pembuatan Media.....	54
2 Dokumentasi Hasil Pengukuran.....	55
3 Hasil dan Pengolahan Data.....	57

