

**BIOREMEDIASI METANOL OLEH BAKTERI
Bacillus altitudinis TERIMOBILISASI DALAM MATRIKS
KARAGENAN ASAL LAUT INDONESIA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

**AVILA GARIBALDI
A 171 009**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI INDONESIA
YAYASAN HAZANAH
BANDUNG
2021**

BIOREMEDIASI METANOL OLEH BAKTERI
Bacillus altitudinis **TERIMOBILISASI DALAM Matriks**
KARAGENAN ASAL LAUT INDONESIA

AVILA GARIBALDI
A 171 009

Agustus, 2021

Disetujui Oleh:

Pembimbing



Syarif Hamdani, M. Si.

Pembimbing



Dr. apt. Dewi Astriany, M. Si.

Kutipan atau saduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.

Skripsi ini saya persembahkan kepada kedua orangtua dan ketiga kakak saya yang telah mendukung dan mendoakan setiap saat.

ABSTRAK

Metanol merupakan salah satu zat kimia beracun yang berbahaya bagi kesehatan manusia, oleh karena itu perlu dilakukan penanganan terhadap limbah metanol sebelum dilepaskan ke lingkungan. Bioremediasi dengan menggunakan bakteri dapat menjadi alternatif dalam proses pengolahan limbah metanol. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan karagenan asal laut Indonesia yang dapat memuat bakteri *Bacillus altitudinis* secara optimal dan mengamati aktivitas bakteri yang terimobilisasi dalam mendegradasi metanol. Pada penelitian ini, *Bacillus altitudinis* diimobilisasi menggunakan metode *entrapment* pada matriks karagenan yang diisolasi dari *Eucheuma cottonii* yang tumbuh pada empat wilayah laut Indonesia. Kapasitas karagenan dalam memuat bakteri ditetapkan berdasarkan pada jumlah koloni yang dihitung menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Pengujian aktivitas bakteri terimobilisasi untuk mendegradasi metanol dilakukan dengan menginkubasi *Bacillus altitudinis* terimobilisasi dalam *Minimum Salt Medium* (MSM) yang mengandung metanol 2% pada suhu 37°C dan 28°C. Aktivitas degradasi ditetapkan dengan menganalisis sisa metanol setelah 24, 48, dan 72 jam dengan metode Schiff menggunakan spektrofotometer UV-Visibel pada 562 nm. Hasil menunjukkan bahwa karagenan asal Maluku merupakan matriks yang paling optimal dalam memuat bakteri *Bacillus altitudinis* dengan kapasitas *loading* hingga $86,6 \times 10^4$ CFU/g dan mampu mendegradasi seluruh metanol yang berkonsentrasi 2% selama jangka waktu 24 – 72 jam dengan aktivitas degradasi terkuat dicapai oleh manik dengan masa simpan 1 bulan pada inkubasi suhu 28°C.

Kata kunci: bioremediasi, imobilisasi bakteri, karagenan, *Bacillus altitudinis*

ABSTRACT

*Methanol is one of the toxic chemicals that are harmful to human health, therefore it is necessary to treat methanol waste before it is released into the environment. Bioremediation using bacteria can be an alternative in the methanol waste treatment process. This study aims to obtain carrageenan which is able to load Bacillus altitudinis optimally and observe the activity of bacteria immobilized in degrading methanol. In this study, Bacillus altitudinis was immobilized using entrapment method on carrageenan isolated from *Eucheuma cottonii* which grows in four Indonesian sea areas. The capacity of the carrageenan to load bacteria was determined based on the number of colonies calculated using the Total Plate Count (TPC) method. The activity of immobilized bacteria in degrading methanol was tested by incubating immobilized Bacillus altitudinis in Minimum Salt Medium (MSM) containing 2% methanol at 37°C and 28°C. Degradation activity was determined by analyzing the remaining methanol after 24, 48, and 72 hours by schiff method using UV-Visibel spectrophotometer at 562 nm. The results showed that carrageenan from Maluku is the most optimal matrix in loading bacteria Bacillus altitudinis with a loading capacity of up to 86.6×10^4 CFU / g and able to degrade all methanol that concentrates 2% over a period of 24 - 72 hours with the strongest degradation activity achieved by beads with a shelf life of 1 month at an incubation temperature of 28 °C.*

Keywords: bioremediation, bacterial immobilization, carrageenan, Bacillus altitudinis

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur panjatkan kehadiran Allah SWT karena atas berkah dan rahmat-Nya dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi yang berjudul “Bioremediasi Metanol oleh Bakteri *Bacillus altitudinis* Terimobilisasi dalam Matriks Karagenan Asal Laut Indonesia” dengan dosen pembimbing Syarif Hamdani, M. Si. dan Dr. apt. Dewi Astriany, M. Si.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia. Dalam menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi ini, tidak terlepas dari bantuan dan motivasi dari berbagai pihak, maka pada kesempatan kali ini diucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. apt. Adang Firmansyah, M. Si. selaku Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
2. apt. Revika Rachmaniar, M. Farm. selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama ini,
3. Dr. apt. Diah Lia Aulifa, M. Si. selaku Dosen Wali yang telah memberikan bimbingan dan arahan selama ini,
4. Seluruh staf dosen, staf administrasi, serta karyawan Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia,
5. Serta teman-teman yang telah menemani dan memberikan dukungan serta berkontribusi selama penulis berkuliah.

Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa mendatang. Penulis berharap semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi pihak yang membutuhkan.

Bandung, Agustus 2020

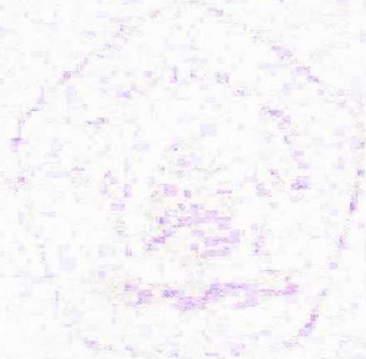
DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KUTIPAN	ii
PERSEMBAHAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Kegunaan Penelitian	2
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Metanol	4
2.2 Bioremediasi	4
2.3 Imobilisasi	5
2.4 Karagenan	9
2.5 Bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	11
BAB III TATA KERJA	13
2.1 Alat	13
2.2 Bahan	13
2.3 Metode Penelitian	13
3.1.1 Imobilisasi Bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	13
3.1.2 Uji Kapasitas <i>Loading</i> Bakteri pada Karagenan	14
3.1.3 Uji Aktivitas Degradasi Metanol dari Bakteri Terimobilisasi	14
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Imobilisasi Bakteri <i>Bacillus altitudinis</i>	16
4.2 Kapasitas <i>Loading</i> Bakteri pada Karagenan	17
4.3 Aktivitas Degradasi Metanol dari Bakteri Terimobilisasi	18

BAB V	SIMPULAN DAN ALUR PENELITIAN SELANJUTNYA.....	22
	5.2 Simpulan.....	22
	5.2 Alur Penelitian Selanjutnya	22
	DAFTAR PUSTAKA.....	23
	LAMPIRAN.....	27

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Faktor yang mempengaruhi efisiensi bioremediasi (Das, 2014).....	5
2.2 Tipe-tipe metode imobilisasi.....	8
2.3 Keberhasilan imobilisasi bakteri dalam mendegradasi limbah.....	9
2.4 Kapasitas loading karagenan sebagai matriks imobilisasi	11
2.5 Keberhasilan <i>B. altitudinis</i> dalam mendegradasi limbah.....	12
4.1 Karakteristik manik hasil imobilisasi secara organoleptis.....	17
4.2 Kapasitas loading karagenan terhadap <i>Bacillus altitudinis</i>	17
4.3 Hasil uji aktivitas degradasi metanol oleh suspensi bakteri.....	20



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Metode imobilisasi.....	7
2.2 Struktur kimia kappa karagenan, iota karagenan, dan lamda karagenan	10
2.3 Kurva penurunan kadar metanol oleh bakteri <i>Bacillus altitudinis</i> terimobilisasi yang diinkubasi pada suhu 37°C.....	19
2.4 Kurva penurunan kadar metanol oleh bakteri <i>Bacillus altitudinis</i> terimobilisasi yang diinkubasi pada suhu 28°C.....	20

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil uji kapasitas loading bakteri pada karagenan asal indonesia	27
2. Kurva standar	28
3. Hasil uji aktivitas degradasi metanol oleh <i>Bacillus altitudinis</i> terimobilisasi ..	29
4. <i>Certificate Of Analysis</i> pereaksi schiff.....	30



DAFTAR PUSTAKA

- Alfiyanto, Harun. 2018. "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Sebagai Agen Bioremediasi Metanol dari Lumpur Kubangan Babi". *Skripsi*. Bandung: Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia.
- Bano, Asghari, Asim Shahzad, and Samina Siddiqui. 2015. "Rhizodegradation of Hydrocarbon from Oily Sludge." *Journal of Bioremediation & Biodegradation* 06(03):1–11. doi: 10.4172/2155-6199.1000289.
- Bayat, Zeynab, Mehdi Hassanshahian, and Simone Cappello. 2015. "Immobilization of Microbes for Bioremediation of Crude Oil Polluted Environments: A Mini Review." *The Open Microbiology Journal* 9:48–54. doi: 10.2174/1874285801509010048.
- Bouabidi, Zineb B., Muftah H. El-Naas, and Zhien Zhang. 2018. "Immobilization of Microbial Cells for The Biotreatment of Wastewater: A Review." *Environmental Chemistry Letters* 17. doi: 10.1007/s10311-018-0795-7.
- Cassidy, M. B., H. Mullineers, H. Lee, and J. T. Trevors. 1997. "Mineralization of Pentachlorophenol in a Contaminated Soil by Pseudomonas Sp UG30 Cells Encapsulated in K-Carrageenan." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 19(1):43–48. doi: 10.1038/sj.jim.2900415.
- Dzionic, Anna, Danuta Wojcieszynska, and Urszula Guzik. 2016. "Natural Carriers in Bioremediation: A Review." *Electronic Journal of Biotechnology* 23:28–36. doi: 10.1016/j.ejbt.2016.07.003.
- Ferdiansyah, Rival. 2016. "Isolasi Dan Karakterisasi Kappa Karagenan Dari Euchema Cottonii Asal Lima Perairan Di Wilayah Indonesia Dan Aplikasinya Sebagai Matriks Tablet Apung." Universitas Padjajaran.
- Ferdiansyah, Rival, Anis Yohana C, and Marline Abdassah. 2017. "Karakterisasi Kappa Karagenan Dari Euchema Cottonii Asal Perairan Kepulauan Natuna Dan Aplikasinya Sebagai Matriks Tablet Apung." *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 6(1):14–26.
- Fleming, Dara L. 2004. "Evaluating Bacterial Cell Immobilization Matrices for Use in a Biosensor." Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Gòdia, Francesc, Carles Casas, Bernardo Castellano, and Carles Solà. 1987. "Immobilized Cells: Behaviour of Carrageenan Entrapped Yeast During Continuous Ethanol Fermentation." *Applied Microbiology and Biotechnology* 26:342–46. doi: 10.1007/BF00256666.

- Habibi, Niki, and Maya Shovitri. 2014. "Imobilisasi Isolat Bacillus S1 Dengan Agar Dan Alginat Untuk Bioremediasi Logam Berat Merkuri." *Jurnal Sains Dan Seni ITS*.
- Hamdani, Syarif.; Basuki Hadi; dan Ferro Subhan. 2013. "Biodegradasi Limbah Metanol Dengan Menggunakan Ragi Trichosporon Sp. UICC-S41111." *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 2(1):1-8.
- Husárová, Slavomíra, Mickaël Vařtilingom, Laurent Deguillaume, Mounir Traikia, Virginie Vinatier, Martine Sancelme, Pierre Amato, Mária Matulová, and Anne Marie Delort. 2011. "Biotransformation of Methanol and Formaldehyde by Bacteria Isolated from Clouds. Comparison with Radical Chemistry." *Atmospheric Environment* 45(33):6093-6102.
- Junusmin, Kathleen Irena, Brian Saputra Manurung, and Yeti Darmayati. 2019. "Bioremediation of Oil-Contaminated Sediment by Hydrocarbonoclastic Bacterial Consortium Immobilized in Different Types of Carrier." *AIP Conference Proceedings*.
- Kardena, Edwan, Himawan G. Prabowo, and Qomarudin Helmy. 2020. "Imobilisasi Kultur Campuran Mikroba Dan Karakteristik Aktifitasnya Dalam Menurunkan Organik Dan Amoniak Pada Limbah Cair Domestik." *Jurnal Te* 26(1):73-86.
- Karel, Steven F., Shari B. Libicki, and Channing R. Robertson. 1985. "The Immobilization of Whole Cells: Engineering Principles." *Chemical Engineering Science* 40(8):1321-54.
- Kaur, Ravneet, and Dinesh Goyal. 2020. "Biodegradation of Butachlor by Bacillus Altitudinis and Identification of Metabolites." *Current Microbiology* 77(10):2602-12.
- Li, Yong Sheng, La Mei Mo, and Xiu Feng Gao. 2018. "Direct Automatic Determination of the Methanol Content in Red Wines Based on the Temperature Effect of the KMnO₄/K₂S₂O₅/Fuchsin Sodium Sulfite Reaction System." *RSC Advances* 8(15):8426-34. doi: 10.1039/c8ra00307f.
- Liu, Jiann Hong, Jyoti Prakash Maity, Jiin Shuh Jean, Chien Yen Chen, Chien Cheng Chen, and Sin Yi Ho. 2010. "Biodegradation of Benzene by Pure and Mixed Cultures of Bacillus Spp." *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 26(9):1557-67.
- Marimuthu, T., S. Rajendran, and M. Manivannan. 2013. "A Review on Bacterial Degradation of Textile Dyes." *Journal of Chemistry and Chemical Sciences* 3(3):97-228.

- Martins, Suzana Claudia Silveira, Claudia Miranda Martins, Larissa Maria Cidrao Guedes Fiuza, and Sandra Tedde Santaella. 2013. "Immobilization of Microbial Cells: A Promising Tool for Treatment of Toxic Pollutants in Industrial Wastewater." *African Journal of Biotechnology* 12(28):4412-18. doi: 10.5897/ajb12.2677.
- Pilkington, H., A. Margaritis, N. Mensour, J. Sobczak, I. Hancock, and I. Russell. 1999. "Kappa-Carrageenan Gel Immobilisation of Lager Brewing Yeast." *Journal of the Institute of Brewing* 105(6):398-405.
- Polakovič, Milan, Juraj Švitel, Marek Bučko, Jaroslav Filip, Vilém Neděla, Marion B. Ansorge-Schumacher, and Peter Gemeiner. 2017. "Progress in Biocatalysis with Immobilized Viable Whole Cells: Systems Development, Reaction Engineering and Applications." *Biotechnology Letters*.
- Pratiwi, N. T. M., S. Hariyadi, I. P. Ayu, T. Apriadi, A. Iswantari, and D. Y. Wulandari. 2019. "Pengelolaan Kandungan Bahan Organik Pada Limbah Cair Laboratorium Proling - MSP - IPB Dengan Berbagai Kombinasi Agen Bioremediasi (Management of Organic Matter Content From Proling Laboratory Waste Water Using Several Combinations of Bioremediation Agent." *2019* 15(1):89-95.
- Putri Mambang, D. Elysa, Rosidah -, and Dwi Suryanto. 2014. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Tempe Terhadap Bakteri Bacillus Subtilis Dan Staphylococcus Aureus." *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan* 25(1):115-18.
- Rochdiana, Laela. 2011. "Perubahan Struktur Fenantrena Selama Proses Biodegradasi Oleh Bakteri Bacillus Altitudinis." Institut Pertanian Bogor.
- Rowe, Raymond C., Paul J. Sheskey, and Sian C. Owen. 2006. *Handbook of Pharmaceutical Exipient*. 6th ed. Washington, DC.
- Saparianti, Ella. 2001. "Amobilisasi Sel Pediococcus Acidilactici F11 Penghasil Bakteriosin Pada Gel Kalsium Alginat." *Jurnal Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya* 2(1):1-9.
- Setyahadi, Siswa, Achmadin Luthfi Machsum, and Renny S. Mokodongan. 2011. "Kitin Sebagai Penopang Untuk Amobilisasi Lipase Pada Proses Trans-Esterifikasi Trigliserida." 1-5.
- Shivaji, S., P. Chaturvedi, K. Suresh, G. S. N. Reddy, C. B. S. Dutt, M. Wainwright, J. V. Narlikar, and P. M. Bhargava. 2006. "Bacillus Aerijs Sp. Nov., Bacillus Aerophilus Sp. Nov., Bacillus Stratosphericus Sp. Nov. and Bacillus Altitudinis Sp. Nov., Isolated from Cryogenic Tubes Used for Collecting Air Samples from High Altitudes." *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 56(7):1465-73.

- Tambekar, Dilip H., AV Rajgire, and SG Tembhare. 2015. "Molecular Characterization and Detoxification of Methanol by Haloalkaliphilic Pseudomonas Spp." *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB)* 3(5):43–47.
- Tosa, Tetsuya, Tadashi Sato, Takao Mori, Kazo Yamamoto, Isao Takata, Yutaka Nishida, and Ichiro Chibata. 1979. "Immobilization of Enzymes and Microbial Cells Using Carrageenan as Matrix." *Biotechnology and Bioengineering* 21(10):1697–1709.
- Tran, Tam Thi Minh, Suong Thi Hong Nguyen, and Houg Thuy Nguyen. 2014. "Determination of Immobilization Process Parameters of Corynebacterium Glutamicum on Kappa Carrageenan , Its Application in L-Lysine Fermentation and The Investigation Into Its Storage Conditions." *Journal of Engineering Research and Applications* 4(11):55–62.
- Vettath, Vineeth Kodengil, Ana Carolina M. Junqueira, Akira Uchida, Rikky W. Purbojati, James N. I. Houghton, Caroline Chénard, Daniela I. Drautz-Moses, Anthony Wong, Sandra Kolundžija, Megan E. Clare, Kenny J. X. Lau, Nicolas E. Gaultier, Cassie E. Heinle, Balakrishnan N. V. Premkrishnan, Elena S. Gusareva, Enzo Acerbi, Liang Yang, and Stephan C. Schuster. 2017. "Complete Genome Sequence of Bacillus Altitudinis Type Strain SGAir0031 Isolated from Tropical Air Collected in Singapore." *Genome Announcements* 5(45):9–10.
- Wang, Henry Y., and David J. Hettwer. 1982. "Cell Immobilization in K-Carrageenan with Tricalcium Phosphate." *Biotechnology and Bioengineering* 24:1827–38.
- Wexler, P., 2014. *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*. London: Elsevier Inc. Hal 238-241.