

**OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN DENGAN MENGGUNAKAN
MEDIA LIMBAH CAIR KELAPA SAWIT DARI BAKTERI LIPOLITIK
ISOLAT LOKAL TERPILIH**

(Skripsi)

Oleh

MEITRI AYU NINGRUM



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

ABSTRAK

OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN DENGAN MENGGUNAKAN MEDIA LIMBAH CAIR KELAPA SAWIT DARI BAKTERI LIPOLITIK ISOLAT LOKAL TERPILIH

Oleh

MEITRI AYU NINGRUM

Biosurfaktan merupakan salah satu produk bioteknologi yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan dapat diproduksi menggunakan berbagai substrat pertumbuhan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui kemampuan limbah cair kelapa sawit sebagai substrat produksi biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri lipolitik isolat lokal terpilih serta menentukan kondisi optimumnya. Metode yang dilakukan meliputi uji hemolisis, penentuan kurva pertumbuhan bakteri, optimasi waktu produksi biosurfaktan menggunakan 10 % limbah cair kelapa sawit, serta optimasi pH dan salinitas dengan uji emulsifikasi, *oil spreading*, dan *drop collapse*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri lipolitik LKM D₁, LKT B₁, dan LKM C₂ dapat menghasilkan biosurfaktan ditandai terbentuknya zona bening disekitar kertas cakram. Isolat bakteri lipolitik menghasilkan biosurfaktan pada akhir fase stasioner yaitu isolat LKM D₁ dan LKT B₁ pada jam ke-60 dan LKM C₂ pada jam ke-72. Produksi biosurfaktan menggunakan 10 % limbah cair kelapa sawit pada ketiga isolat bakteri lipolitik optimum pada waktu ke-108 jam. Hasil penentuan pH dan salinitas optimum produksi biosurfaktan menggunakan 10 % limbah cair kelapa sawit menunjukkan bahwa isolat LKM D₁ optimum pada pH 7 dan kadar salinitas 0,5 %, LKT B₁ optimum pada pH 8 dan kadar salinitas 1 %, serta LKM C₂ optimum pada pH 9 dan kadar salinitas 1 %.

Kata kunci: biosurfaktan, limbah cair kelapa sawit, bakteri lipolitik

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF BIOSURFACTANT PRODUCTION USING PALM OIL LIQUID WASTE MEDIUM FROM SELECTED LOCAL ISOLATE LIPOLYTIC BACTERIA

By

MEITRI AYU NINGRUM

Biosurfactant is one of the biotechnology products produced by microorganisms and can be produced using various growth substrates. The purpose of this study was to determine the ability of palm oil liquid waste as a biosurfactant production substrate produced by selected local isolate lipolytic bacteria and determine optimum conditions. Methods included hemolysis, determination of bacterial growth curves, optimization of biosurfactant production time using 10 % palm oil liquid waste, and optimization of pH and salinity with emulsification, oil spreading, and drop collapse tests. The results showed that LKM D₁, LKT B₁, and LKM C₂ lipolytic isolates can produce biosurfactants marked by the formation of clear zones around the paper disk. Lipolytic bacterial isolates produce biosurfactants at the end of the stationary phase, namely LKM D₁ and LKT B₁ isolates at 60 hours and LKM C₂ at 72 hours. Biosurfactant production uses 10 % of palm oil liquid waste in the three optimum isolates of lipolytic bacteria at 108 hours. The results of determining the optimum pH and salinity of biosurfactant production using 10 % of palm oil liquid waste showed that the optimum LKM D₁ isolates at pH 7 and salinity level of 0.5 %, optimum LKT B₁ at pH 8 and salinity level of 1 %, and optimum LKM C₂ at pH 9 and salinity level of 1 %.

Keywords: biosurfactant, palm oil liquid waste, lipolytic bacteria

**OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN DENGAN MENGGUNAKAN
MEDIA LIMBAH CAIR KELAPA SAWIT DARI BAKTERI LIPOLITIK
ISOLAT LOKAL TERPILIH**

Oleh

MEITRI AYU NINGRUM

Skripsi

**Sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Lampung**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2019**

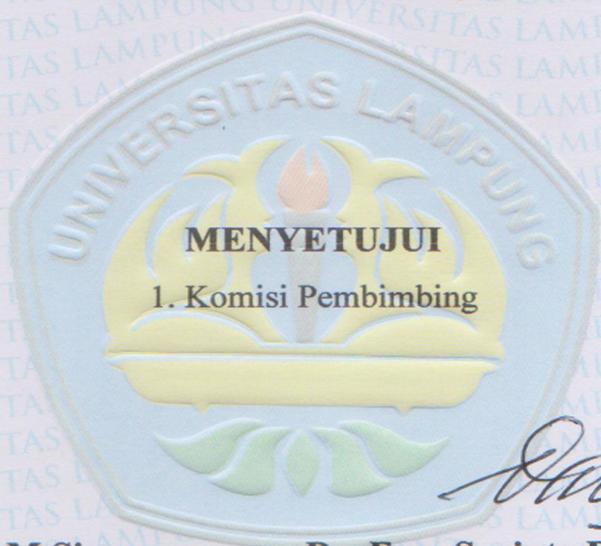
Judul Skripsi : **OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN
DENGAN MENGGUNAKAN MEDIA LIMBAH
CAIR KELAPA SAWIT DARI BAKTERI
LIPOLITIK ISOLAT LOKAL TERPILIH**

Nama Mahasiswa : **Meitri Ayu Ningrum**

No. Pokok Mahasiswa : 1517011131

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Nurhasanah, M.Si.
NIP 19741211 198002 2 001

Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

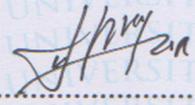
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

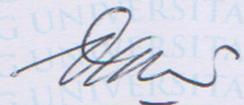
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

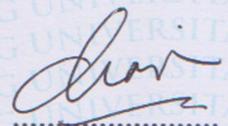
Ketua : Dr. Nurhasanah, M.Si.



Sekretaris : Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Dian Herasari, S.Si., M.Si.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Drs. Suratman, M.Sc.
NIP. 19640604 199003 1 002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 04 Desember 2019

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Meitri Ayu Ningrum
Nomor Pokok Mahasiswa : 1517011131
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Optimasi Produksi Biosurfaktan Dengan Menggunakan Media Limbah Cair Kelapa Sawit Dari Bakteri Lipolitik Isolat Lokal Terpilih”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenarnya untuk digunakan sebagaimana semestinya.

Bandar Lampung, 16 Desember 2019

Yang menyatakan,



Meitri Ayu Ningrum
Npm. 1517011131

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Meitri Ayu Ningrum dilahirkan di Sukanegara, pada 17 Mei 1997, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara, putri dari bapak Bibit (Alm) dan ibu Tri Pujiasih. Penulis saat ini bertempat tinggal di Sukamulya, Desa Sukanegara, Kecamatan Tanjung bintang, Lampung selatan.

Jenjang pendidikan diawali dari Taman Kanak-kanak di TK IKI PTPN VII Way Galih diselesaikan pada tahun 2003, Sekolah Dasar di SD N 1 Sukanegara diselesaikan pada tahun 2009, Sekolah Menengah Pertama di SMP Tunas Dharma Way Galih diselesaikan pada tahun 2012, Sekolah Menengah Atas di SMK SMTI Bandar Lampung diselesaikan pada tahun 2015. Tahun 2015, penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung (Unila) melalui jalur SBMPTN (Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Nasional).

Selama menempuh pendidikan di kampus, penulis pernah menjadi asisten praktikum Biokimia II Jurusan Kimia semester ganjil dan semester genap tahun 2018/2019. Selain itu, penulis aktif di organisasi kampus dimulai dengan menjadi anggota Garuda BEM FMIPA Unila tahun 2015/2016, Kader Muda Himaki (KAMI) FMIPA Unila tahun 2015/2016, anggota Biro Penerbitan Himaki FMIPA Unila tahun

2016/2017 dan menjadi anggota PSDM BEM FMIPA Unila tahun 2016/2017 serta penulis kembali menjadi anggota Biro Penerbitan Himaki FMIPA Unila tahun 2017/2018.

Penulis telah melakukan Praktek Kerja Lapangan pada Bulan Januari 2018 di di Balai Pengujian Mutu dan Sertifikasi Produk Hewan (BPMSPH) Bogor dengan judul **“Penentuan Kadar Kolesterol Dalam Telur Ayam Dengan Menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)”**. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 32 hari di Desa Dwikora Jaya, Kecamatan Gunung Agung, Kabupaten Tulang Bawang Barat pada bulan Juli-Agustus tahun 2018. Penulis melakukan penelitian di Laboratorium Biokimia FMIPA Unila pada bulan Maret-September 2019 dengan judul **“Optimasi Produksi Biosurfaktan Dengan Menggunakan Media Limbah Cair Kelapa Sawit Dari Bakteri Lipolitik Isolat Lokal Terpilih”**. Pada bulan Desember 2019 penulis dinyatakan lulus sebagai sarjana Sains.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji hanya milik Allah Subhanahu wa Ta'ala yang telah melimpahkan nikmat sehat sehingga atas Ridho-Nya karya ini dapat terselesaikan. Kupersembahkan karya sederhanaku ini sebagai wujud bukti dan tanggung jawab kepada:

“Kedua orang tuaku”

Bapakku Bibit (Alm) dan Mamaiku Tri Pujiasih yang selalu rela berkorban memberikan kasih sayang, dukungan, serta do'a terbaik sepanjang waktu yang mungkin takkan pernah terbalaskan dengan apapun dan sampai kapanpun.

“Kakak dan adikku”

Mas Riko Pambudhi dan Mba Ika Lukita Wardhani Adikku Lucky Riva Farandani sumber semangatku yang luar biasa, yang selalu memberikan kasih sayang, perhatian, serta doa.

Kerabat, sahabat, serta teman-temanku yang senantiasa mendukung dan mendoakan.

Rasa hormatku kepada:

Dr. Nurhasanah, M.Si.

Terima kasih atas ilmu, nasihat, kritik dan saran serta telah sabar dalam membimbing selama ini.

Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia atas dedikasi dan seluruh ilmu yang telah diberikan.

Almamater Tercinta
Universitas Lampung

MOTTO

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada tuhanmulah engkau berharap"
(QS. Al-Insyirah: 6-8)

"Ilmu pengetahuan bukanlah yang dihafal, melainkan yang memberi manfaat"
(Imam Syafi'i)

"Tidak ada usaha yang pasti berhasil, tapi orang yang mau berusaha pasti akan berhasil"
(Anonim)

"Syukuri dan nikmati apa yang kamu miliki, sebelum kehilangan itu datang dan tidak bisa kembali lagi"
(Penulis)

"Ketika kamu dihadapkan pada sesuatu yang berat serta membuat kamu jatuh dan ingin menyerah, berdo'a dan percayalah bahwa pertolongan Allah itu pasti dan tepat pada waktunya"
(Penulis)

SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Optimasi Produksi Biosurfaktan Dengan Menggunakan Media Limbah Cair Kleapa Sawit Dari Bakteri Lipolitik Isolat Lokal Terpilih**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada program studi Kimia FMIPA Universitas Lampung. Sholawat teriring salam semoga Allah SWT sampaikan kepada baginda Nabi Muhammad SAW dan semoga kita mendapatkan syafa’at dari-Nya di yaumul akhir kelak, Aamiin.

Dalam pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan dan rintangan. Namun itu semua dapat penulis lalui berkat dukungan, bantuan, dan dorongan semangat dari berbagai pihak. *Jazakumullahu Khairan Katsiran Wa Jazakumullah Ahsanal Jaza*. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tuaku tercinta, yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, motivasi, do’a serta segala pengorbanan, kekuatan, kesabaran yang telah diberikan kepada penulis.
2. Kakak dan adikku yang selalu memberikan kasih sayang, dukungan, semangat, dan do’a, kepada penulis.

3. Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si. selaku pembimbing I yang telah memberikan bimbingan, ilmu, saran, motivasi, perhatian, nasihat, dan seluruh kebaikannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
4. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, ilmu, saran, serta nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Dian Herasari, M.Si. selaku pembahas dalam penelitian yang telah memberikan nasehat, kritik, saran, dan arahan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
6. Ibu Noviany, M.Si., Ph.D. selaku pembimbing akademik atas kesediaannya untuk memberikan bimbingan, bantuan, nasehat yang bermanfaat kepada penulis.
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, terimakasih atas seluruh ilmu, pengalaman, dan motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
8. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak Drs. Suratman, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
10. Segenap staff administrasi dan karyawan Jurusan Kimia dan FMIPA Universitas Lampung atas segala bantuan yang telah diberikan kepada penulis.
11. Nurhasanah's *Research Group* 2015, Widya Kusuma, Intan Tsamrotul Fu'adah, Siwi Meutia Sadewi, Silvana Citra, dan terkhusus partner biosurfaktanku Viky Dila Cahyani. Terimakasih atas kerjasama, bantuan, kritik, saran, dan do'a yang telah diberikan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.

12. Sahabatku “Somplak”, Widya Kusuma, S.Si., Fatry Sinjia, S.Si., Dira Avista, S.Si., Meynisa Zunaidar, S.Si., Yesi Oktara Kasih, S.Si., Elsina’Azmi, S.Si., Hani Chintia Ramadani, S.Si., Nur Wulandari, S.Si., dan Zuwita wulandari, S.Si. Terimakasih selalu menemani saat suka dan duka, dimasa tersulit hidupku kalian selalu hadir dan kita masih saling kebersamai. Meskipun jarak dan waktu akan membuat kita tidak saling bertemu, tapi percayalah Allah pasti menyusun rencana terindah untuk kita berkumpul kembali.
13. Teman belajarku “CCA”, Dira Avista, Widya Kusuma, Alifa Dyah Savira, Intan Tsamrotul Fu’adah, Sri Budi Asih, Nurmala, Aulia Yulanda, Nadya Syarifatul Fajriah, dan Tri Agus Wijayanti. Terimakasih atas bantuan, dukungan, semangat, dan doa yang telah diberikan kepada penulis.
14. Kakak dan adik seperbimbingan “Nurhasanah’s *Research Group*”, Kak Luthfi, Kak Angga, Mba Dwi, Yoanda, Putri serta terkhusus untuk Mba Leony Fransiska terimakasih atas bantuan dan kebaikan yang diberikan kepada penulis.
15. Teman, kakak dan adik seperjuangan di Laboratorium Biokimia serta Kak Asrul Fanani, terimakasih atas kerjasama dan bantuan yang diberikan kepada penulis.
16. Keluarga tercinta Kimia 2015 “Chem15try” khususnya kelas C, terimakasih atas kebersamaan dan suka duka yang telah dilewati selama ini. Semoga Allah memberi kesuksesan untuk kita semua, Aamiin.
17. Keluarga besar Himaki FMIPA Unila periode 2017 khususnya Biro Penerbitan serta para penghuni grup Bukan Kaleng-Kaleng yang memberikan arti kekeluargaan dan kebahagiaan. Pengalaman bersama kalian akan selalu teringat.

18. Kakak dan adik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung angkatan 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, dan 2019.
19. My kance “Cuk Brother”, Melina, Afrido Rachmadi Kartawirya, dan Ade Yulian Handi Saputra, atas dukungan dan do’a yang diberikan kepada penulis.
20. Azwir Irfansyah, yang telah memberikan dukungan, semangat, perhatian, dan do’a. Terimakasih telah menemani dan mendengarkan keluh kesahku selama penelitian maupun penulisan skripsi ini.
21. My Kance since 2012; Eva, Donna, Chyntya, Ema, dan Hermina, telah memberi warna dalam kehidupan penulis. Semoga kebersamaan kita sepanjang masa.
22. Teman-teman KKN Tiyuh Dwikora Jaya, Ani, Eti, Eca, Ilham, Ivan, Saleh, dan Bang Sandi yang telah memberikan dukungan dan do’a kepada penulis.
23. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang secara tulus dan ikhlas memberikan bantuan moril dan materil kepada penulis.
24. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

Atas segala kebaikan yang telah diberikan, semoga Allah SWT membalasnya dengan pahala yang berlipat ganda, Aamiin. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih terdapat kekurangan, namun penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan berguna bagi rekan-rekan khususnya mahasiswa kimia dan pembaca pada umumnya.

Bandar Lampung, Desember 2019
Penulis

Meitri Ayu Ningrum

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
C. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Biosurfaktan	5
B. Aplikasi Biosurfaktan	8
C. Produksi Biosurfaktan	8
D. Karakterisasi biosurfaktan	15
1. Hemolisis	15
2. Tegangan permukaan.....	16
3. Aktivitas emulsifikasi	17
D. Bakteri Lipolitik.....	19
E. Limbah Kelapa Sawit	20
III. METODE PENELITIAN.....	23
A. Waktu dan Tempat.....	23
B. Alat dan Bahan	23
C. Prosedur Penelitian.....	24

1. Tahap Persiapan.....	24
2. Pembuatan Media	24
3. Peremajaan Isolat Bakteri Lipolitik	26
4. Uji Biosurfaktan.....	27
5. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Penghasil Biosurfaktan	29
6. Optimasi Produksi Bakteri Lipolitik Penghasil Biosurfaktan.....	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
A. Isolat Bakteri Lipolitik	33
B. Potensi Isolat Lipolitik Sebagai Penghasil Biosurfaktan.....	34
C. Kurva Pertumbuhan Bakteri Penghasil Biosurfaktan.....	35
D. Kondisi Optimum Produksi Biosurfaktan	38
1. Waktu Optimum	38
2. pH Optimum	41
3. Kadar Salinitas Optimum.....	46
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	51
A. Simpulan.....	51
B. Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53
LAMPIRAN.....	61

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis mikroba dan biosurfaktan yang dihasilkan	7
2. Kadar salinitas optimum produksi biosurfaktan dari beberapa penelitian	50
3. Data absorbansi kurva pertumbuhan isolat LKM D ₁	62
4. Data absorbansi kurva pertumbuhan isolat LKT B ₁	62
5. Data absorbansi kurva pertumbuhan isolat LKM C ₂	62
6. Data absorbansi optimasi waktu produksi biosurfaktan isolat LKM D ₁	63
7. Data absorbansi optimasi waktu produksi biosurfaktan isolat LKT B ₁	63
8. Data absorbansi optimasi waktu produksi biosurfaktan isolat LKM C ₂	63
9. Data hasil optimasi pH produksi biosurfaktan dengan media <i>Mineral Salt Medium</i>	65
10. Data hasil optimasi pH produksi biosurfaktan dengan media <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM) + 10% limbah cair kelapa sawit	65
11. Data hasil optimasi kadar salinitas produksi biosurfaktan dengan media <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM)	66
12. Data hasil optimasi kadar salinitas produksi biosurfaktan dengan media <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM) + 10% limbah cair kelapa sawit	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bagan alir penelitian	32
2. Hasil peremajaan isolat bakteri lipolitik (a) LKM D ₁ (b) LKT B ₁ dan (c) LKM C ₂	33
3. Uji Hemolisis (a) Media <i>blood agar plate</i> (b) Hasil uji isolat bakteri lipolitik (1) Kontrol negatif (2) LKM D ₁ (3) LKT B ₁ dan (4) LKM C ₂	34
4. Kurva pertumbuhan bakteri lipolitik penghasil biosurfaktan	36
5. Kurva waktu optimum produksi biosurfaktan	39
6. pH optimum isolat bakteri lipolitik (a) LKM D ₁ (b) LKT B ₁ (c) LKM C ₂ pada media MSM	42
7. pH optimum isolat bakteri lipolitik (a) LKM D ₁ (b) LKT B ₁ (c) LKM C ₂ pada media MSM + 10 % limbah cair kelapa sawit.....	45
8. Kadar salinitas optimum isolat bakteri lipolitik (a) LKM D ₁ (b) LKT B ₁ (c) LKM C ₂ pada media MSM.....	47
9. Kadar salinitas optimum isolat bakteri lipolitik (a) LKM D ₁ (b) LKT B ₁ (c) LKM C ₂ pada media MSM dan 10 % limbah cair kelapa sawit.....	49
10. Hasil uji pH optimum dengan media <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM)	67
11. Hasil uji pH optimum dengan media <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM) dan 10% limbah cair kelapa sawit.....	67
12. Hasil uji kadar salinitas optimum dengan media <i>Mineral Salt Medium</i> (MSM) .	68

13. Hasil uji kadar salinitas optimum dengan media *Mineral Salt Medium* (MSM) dan 10% limbah cair kelapa sawit..... 68

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pencemaran lingkungan oleh senyawa hidrokarbon yang bersumber dari minyak bumi mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya aktivitas industri (Jahangeer *and* Kumar, 2013). Pencemaran ini akan menimbulkan dampak bagi kesehatan organisme apabila masuk ke dalam lingkungan perairan maupun daratan karena minyak bumi memiliki sifat karsinogenik, toksik, mutagenik serta sulit terurai (Priadie, 2012). Penanggulangan telah dilakukan dengan beberapa cara salah satunya dengan penggunaan surfaktan kimia. Akan tetapi masalah lain timbul karena surfaktan bersifat resisten untuk dapat dipecah secara biologi dan sangat toksik saat terakumulasi dalam suatu ekosistem alam (Fiechter, 1992).

Saat ini telah berkembang bioremediasi untuk mendegradasi pencemaran hidrokarbon minyak bumi yang secara mikrobiologis diakui lebih aman karena melibatkan proses biodegradasi. Proses bioremediasi ini menggunakan biosurfaktan yang berasal dari mikroba yang diyakini sebagai sumber biologis yang efektif untuk mendegradasi hidrokarbon (Atlas, 1991). Rodrigues *et al.* (2006) mengemukakan kegunaan potensial biosurfaktan dibandingkan surfaktan

kimia yaitu lebih rendah daya toksik, ramah lingkungan, mudah terdegradasi di alam, dan aktif spesifik dengan selektivitas tinggi. Selain itu, biosurfaktan dapat dihasilkan dari substrat yang bernilai ekonomi rendah ataupun limbah.

Biosurfaktan merupakan kelompok molekul yang memiliki sifat aktif permukaan. Sifat tersebut dikarenakan biosurfaktan memiliki molekul ampifatik yang terdiri dari gugus hidrofilik dan hidrofobik yang dapat menurunkan tegangan permukaan pada ruang antara air dan minyak (Elazzazya *et al.*, 2015). Biosurfaktan dapat disintesis secara ekstraselular oleh mikroba serta sumber lain seperti jamur dan kapang (Takahashi *et al.*, 2011). Menurut El-Sheshtawy and Doheim (2014) biosurfaktan yang bersumber dari mikroba mempunyai beberapa keuntungan diantaranya mempunyai sifat fisika dan kimia yang stabil, mudah terurai, serta dapat stabil pada temperatur tinggi.

Mikroba yang memiliki potensi sebagai penghasil biosurfaktan dapat diperoleh dari hasil isolasi bakteri dari sampel tertentu seperti tanah atau perairan tercemar. Elazzazya *et al.* (2015) melakukan isolasi bakteri potensi biosurfaktan dari sampel tanah yang tercemar minyak dan Wibisana (2018) melakukan isolasi bakteri penghasil biosurfaktan dari air laut yang tercemar minyak. Isolat-isolat yang didapat dari hasil isolasi sampel tersebut kemudian digunakan untuk produksi biosurfaktan.

Produksi biosurfaktan dari isolat bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain substrat pertumbuhan, usia kultur, dan kondisi lingkungan seperti waktu,

temperatur, pH, salinitas, dan agitasi (Sahara *et al.*, 2011). Selain itu beberapa penelitian menunjukkan bahwa elemen makro seperti karbon, nitrogen, dan konsentrasi NaCl juga memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Ilori *et al.*, 2005).

Produksi biosurfaktan dapat ditingkatkan dengan melakukan optimasi kondisi ekologi, fisiologi, dan nutrisi (Saikia *et al.*, 2011). Saat ini mulai berkembang optimasi produksi biosurfaktan dari isolat bakteri dengan memanfaatkan limbah agroindustri seperti limbah tahu, limbah tapioka, dan limbah kelapa sawit sebagai substrat pertumbuhan. Suryanti dkk. (2014) melakukan optimasi produksi biosurfaktan dengan menggunakan limbah cair tapioka sebagai substrat media. Sementara penggunaan limbah cair kelapa sawit sebagai substrat belum banyak dilaporkan oleh peneliti. Limbah cair kelapa sawit bermanfaat sebagai substrat media untuk pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan karena memiliki kandungan bahan organik, karbon, serta nitrogen (Mandaki *and* Cheng, 2013). Nutrisi lain yang terdapat dalam limbah cair kelapa sawit berupa karbohidrat, lemak, dan protein (Crognale *et al.*, 2006).

Berdasarkan uraian di atas, pada penelitian ini dilakukan optimasi produksi biosurfaktan dengan menggunakan limbah cair kelapa sawit dari bakteri lipolitik isolat lokal terpilih yang memiliki potensi menghasilkan biosurfaktan. Optimasi produksi biosurfaktan dilakukan dengan variasi kondisi lingkungan pertumbuhan antara lain waktu, pH, dan kadar salinitas. Isolat bakteri lipolitik yang digunakan adalah isolat-isolat yang diperoleh dari hasil isolasi bakteri asal kompos yang telah

didapatkan oleh peneliti sebelumnya (Fransiska, 2019). Penggunaan bakteri lipolitik isolat lokal terpilih ini diharapkan dapat menjadi sumber mikroba lokal yang memiliki kemampuan sebagai penghasil biosurfaktan serta mengetahui kondisi optimum untuk produksi biosurfaktan.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui kemampuan limbah cair kelapa sawit sebagai substrat pertumbuhan untuk produksi biosurfaktan dari bakteri lipolitik isolat lokal terpilih.
2. Menentukan kondisi optimum produksi biosurfaktan dari bakteri lipolitik isolat lokal terpilih.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengoptimalkan pemanfaatan limbah cair kelapa sawit sebagai substrat media pertumbuhan untuk produksi biosurfaktan.
2. Memberikan informasi mengenai kondisi optimum untuk produksi biosurfaktan dari bakteri lipolitik isolat lokal terpilih.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Biosurfaktan

Biosurfaktan merupakan salah satu produk bioteknologi yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Secara struktural biosurfaktan mengandung berbagai molekul yang bersifat aktif yang disintesis oleh mikroorganisme. Biosurfaktan bersifat ampifatik, yaitu terdiri dari komponen hidrofilik dan hidrofobik. Bagian hidrofilik (kepala) bersifat polar dan merupakan derivat dari ester, karbohidrat, asam amino, peptida siklis, fosfat, golongan alkohol fungsional dari lemak netral, atau asam karboksilat yang berfungsi mengikat molekul air. Bagian hidrofobik (ekor) bersifat non polar yang berupa rantai hidrokarbon dari asam lemak, hidroksi asam lemak, atau α -alkil- β -hidroksi asam lemak yang berfungsi mengikat molekul minyak (Joshi *et al.*, 2008).

Pada lingkungan berair, bagian ekor (hidrofobik) molekul ampifatik berkelompok berjajar membentuk daerah hidrofilik yang disebut bilayer atau misel. Misel adalah bentukan seperti bola yang tersusun dari kumpulan molekul ampifatik dengan ukuran tertentu. Sedangkan bilayer merupakan molekul ampifatik berlapis dua yang mempunyai panjang tidak terbatas. Bagian hidrofobik dari lemak hampir

selalu berasal dari satu gugus hidrokarbon atau asam lemak jenuh atau tak jenuh dan mengandung struktur siklik atau gugus hidroksi. Sebagian besar biosurfaktan bermuatan netral atau negatif. Pada biosurfaktan anionik, muatan itu disebabkan oleh karboksilat atau fosfat dan kelompok sulfat. Sejumlah kecil biosurfaktan kationik mengandung gugus amina (Desai *and* Banat, 1997).

Biosurfaktan adalah produk metabolisme ekstraseluler yang terikat pada bagian sel. Peran fisiologis biosurfaktan bagi mikroba penghasilnya antara lain berperan dalam emulsifikasi substrat yang tidak larut air, membantu pelekatan sel pada kondisi lingkungan yang baru, dalam patogenesis, dan memiliki aktivitas anti-mikroba. Substrat berupa cairan akan teremulsi menjadi misel dan menyebarkan ke permukaan sel bakteri dengan adanya biosurfaktan. Substrat padat dipecah oleh biosurfaktan sehingga lebih mudah masuk ke dalam sel (Joshi *et al.*, 2008).

Biosurfaktan memiliki keunggulan dibanding surfaktan sintetik yaitu biosurfaktan memiliki tingkat toksisitas yang lebih rendah, mudah terurai secara biologi, lebih efektif pada suhu, pH dan kadar garam yang berlebihan, serta lebih mudah disintesis. Selain itu, sifat aktif permukaan yang dimiliki biosurfaktan berbeda dengan surfaktan sintetik (Lin Soo *et al.*, 2003). Biosurfaktan mampu mengikat molekul hidrokarbon tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan serta secara ekstraseluler menyebabkan emulsifikasi hidrokarbon sehingga mudah untuk didegradasi (Rau *et al.*, 2005). Biosurfaktan dikelompokkan menjadi beberapa jenis sesuai dengan jenis mikroba yang menghasilkannya (Tabel 1).

Tabel 1. Jenis mikroba dan biosurfaktan yang dihasilkan

Jenis Biosurfaktan	Jenis Mikroba
Glikolipida Trehalosa mykolat Trehalosa ester Mono-, Di-, Trisakarida mykolat Rhamnolipida Sophorolipida	<i>Arthrobacter paraffineus; Mycobacterium phlei; Rhodococcus crythropolis</i> <i>Mycobacterium fortitum; Micromonospora sp.; Mycobacterium smegmati; Mycobacterium paraffinicum</i> <i>Arthrobacter sp.; Corynebacterium diphtheria; Mycobacterium smegmatis</i> <i>Pseudomonas sp.; Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida spp.; Torulopsis petrophilum; Torulopsis apicola; Torulopsis bombicola</i>
Fosfolipida dan Asam Lemak Fosfolipida dan asam lemak Fosfolipida	<i>Candida spp.; Corynebacterium spp.; Micrococcus spp. Acinetobacter spp.; Aspergillus spp.; Thiobacillus thioxidans</i>
Lipopeptida dan Lipoprotein Gramiciden Polymyxin Ornithin-lipida Ceripilin Lysin-lipida Surfaktin-subtilysin Peptida lipida Viscosin Serrawettin	<i>Bacillus brevis</i> <i>Bacillus polymyxa</i> <i>Pseudomonas rubescens</i> <i>Gluconobacter cerinus</i> <i>Agrobacterium tumefaciens; Streptomyces sioyaensis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus licheniformis</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Serratia marcescens</i>
Surfaktan Polimer Lipo hetero polisakarida Hetero polisakarida Polisakarida protein Manno-protein Karbohidrat protein Mannan- kompleks lipida Mannosa/erythrosa-lipida Kompleks karbohidrat-protein-lipida	<i>Arthrobacter calcoaceticus</i> RAG-1 <i>Arthrobacter calcoaceticus</i> A2 <i>Arthrobacter calcoaceticus</i> strains; <i>Candida lipolytica</i> <i>Saccaromyces cerevisiae</i> <i>Candida petrophilium; Endomycopsis lipolytica</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Shizonella melanogramma; Ustilago maydis</i> <i>Debaryomyces polymorphus; Pseudomonas spp.; Pseudomonas fluorescens</i>
Biosurfaktan Partikular Membran vesikula Fimbriae Seluruh bagian sel	<i>Acinetobacter sp.</i> H01-N <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> Berbagai jenis mikroba

(Desai and Desai, 1993).

B. Aplikasi Biosurfaktan

Aplikasi biosurfaktan meliputi berbagai bidang antara lain aplikasi potensial di bidang pertanian, kosmetik, farmasi, deterjen, produk perawatan diri, pengolahan makanan, tekstil, perlengkapan *laundry*, perawatan dan pengolahan logam, serta pengolahan kertas dan industri cat. Saat ini biosurfaktan digunakan dalam studi tentang teknologi *Enhanced Oil Recovery* (EOR) untuk meningkatkan perolehan minyak dan bioremediasi hidrokarbon (Kosaric, 2001).

Biosurfaktan yang diproduksi oleh mikroba telah menjadi produk bioteknologi penting yang diaplikasikan secara luas di bidang industri dan medis. Senyawa ini digunakan sebagai agen pengemulsi dan agen pembasah dalam industri logam, kertas, tekstil maupun industri pertanian (Banat *et al.*, 2010). Biosurfaktan berperan sebagai agen pengemulsi dan bahan tambahan dalam industri pangan. Selain itu biosurfaktan diaplikasikan sebagai detergen untuk industri minyak bumi, agen antimikroba untuk industri farmasi dan kesehatan serta sebagai agen pengemulsi yang dapat mempercepat proses degradasi dalam proses bioremediasi senyawa toksik di lingkungan (Singh, 2012).

C. Produksi Biosurfaktan

Biosurfaktan sebagian besar diproduksi oleh mikroorganisme atau mikroba. Banyak mikroba memperlihatkan kemampuannya sebagai penghasil biosurfaktan dengan jenis tertentu, terutama selama masa pertumbuhannya pada substrat tak

larut air. Mayoritas biosurfaktan yang ditemukan dihasilkan oleh bakteri dengan jenis yang bervariasi, sebagai contoh *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus licheniformis*, *Streptococcus thermophilus*, dan *Lactobacillus* (Fukuoka *et al.*, 2007).

Sifat-sifat fisika dan kimia seperti penurunan tegangan permukaan dan kestabilan emulsi yang terbentuk merupakan hal yang sangat penting untuk menentukan potensi biosurfaktan. Sifat-sifat ini digunakan dalam mengevaluasi biosurfaktan dan memilih mikroorganisme potensial untuk menghasilkan biosurfaktan (Desai *and* Desai, 1993). Produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain substrat pertumbuhan, sumber nutrisi (mikro elemen), usia kultur, dan kondisi lingkungan seperti pH, salinitas, temperatur, agitasi, dan ketersediaan oksigen.

1. Substrat Pertumbuhan

Semua mikroorganisme dalam pertumbuhannya membutuhkan sumber karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen serta sedikit fosfor dan sulfur (Mulligan *and* Gibbs, 1993). Ketersediaan, kestabilan, dan variabilitas komponen penyusun medium yang digunakan merupakan hal yang penting dalam proses produksi zat aktif permukaan oleh mikroorganisme.

a. Sumber Karbon

Sumber karbon mempunyai peran penting terhadap hasil dan struktur biosurfaktan. Sifat sumber karbon yang digunakan bakteri untuk

pertumbuhannya mempengaruhi jenis, kualitas, dan kuantitas biosurfaktan yang dihasilkan. Kemampuan bakteri menggunakan karbon dari substrat pertumbuhan akan memberikan aktivitas emulsifikasi yang berbeda serta kemampuan menurunkan tegangan permukaan kultur yang berbeda. Sumber karbon yang telah diketahui dapat digunakan untuk produksi biosurfaktan yaitu karbohidrat, hidrokarbon, dan minyak nabati. Beberapa mikroorganisme memproduksi biosurfaktan hanya pada substrat karbohidrat, beberapa hanya pada substrat hidrokarbon, dan beberapa mikroorganisme ada yang mampu memproduksi biosurfaktan pada substrat dengan beberapa sumber karbon yang digabungkan atau terpisah (Desai *and* Banat, 1997).

Sumber karbon seperti mannitol, gliserol, dan etanol mampu digunakan oleh *Pseudomonas sp.* untuk memproduksi rhamnolipid, namun produksinya masih lebih rendah dari substrat tidak larut air seperti n-alkana dan *olive oil* (Desai *and* Banat, 1997). *Bravibacterium* mampu tumbuh pada sumber karbon glukosa, gliserol, *molasse*, *canola oil*, dan limbah minyak. Akan tetapi biosurfaktan tipe glikolipid hanya dapat diproduksi pada substrat dengan sumber karbon glukosa, gliserol, dan *canola oil* (Samadi *et al.*, 2007).

Sandri (2009) menyebutkan bahwa *Lysinibacillus sphaericus* mampu tumbuh pada sumber karbon yang berbeda dan memproduksi biosurfaktan dengan indeks emulsifikasi biosurfaktan yang berbeda pula. Sumber karbon yang digunakan oleh *Lysinibacillus sphaericus* dalam pertumbuhan untuk

produksi biosurfaktan adalah *crude* gliserol, oli bekas, dan *crude oil*.

Gliserol mudah dimanfaatkan oleh bakteri karena bersifat larut air dan asam lemak bebas yang terkandung dapat merangsang pembentukan biosurfaktan dengan cepat (Bidlan *et al.*, 2007). Sedangkan oli bekas dan *crude oil* mengandung senyawa heterogen yang menyebabkan lambatnya pertumbuhan sel bakteri dan mempengaruhi pertumbuhan biosurfaktan (Sandri, 2009).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa elemen makro yang memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan adalah elemen karbon dan nitrogen.

Perbedaan sumber karbon dan panjang rantai substrat hidrokarbon sering berakibat signifikan terhadap konsentrasi akhir fermentasi biosurfaktan (Georgiou *et al.*, 1992). Sebagai contoh, *Arthrobacter* hanya memproduksi 75% biosurfaktan ekstraseluler ketika ditumbuhkan pada asetat dan etanol namun dapat mencapai 100% biosurfaktan ekstraseluler ketika ditambahkan pada substrat hidrokarbon (Mulligan *and* Gibbs, 1993).

Produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* meningkat seiring dengan kenaikan konsentrasi *molasse* sebagai sumber karbon (Rashedi *et al.*, 2005). Selain itu, Suryatmana dkk. (2006) menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi glukosa yang digunakan dalam pertumbuhan *Azotobacter chroococcum* untuk produksi biosurfaktan maka semakin tinggi pula produksi biosurfaktan yang dihasilkan.

b. Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen dalam medium memberikan hasil yang baik dalam produksi biosurfaktan. Sumber nitrogen juga berperan sebagai pengontrol pH dalam medium. Garam ammonium dan urea memberikan hasil yang lebih baik untuk produksi biosurfaktan oleh *A. paraffineus*. Selain itu, produksi biosurfaktan oleh *P. aeruginosa* didukung oleh nitrat. Budiarti (2000) menyebutkan bahwa pertumbuhan bakteri B4 pada medium urea sebagai sumber nitrogen lebih baik dibandingkan dengan media *yeast extract*. Konsentrasi nitrogen yang terlalu tinggi dalam suatu medium pertumbuhan dengan hidrokarbon sebagai satu-satunya sumber karbon dapat menyebabkan keracunan pada bakteri. Ketersediaan nitrogen yang terbatas tidak hanya menyebabkan produksi biosurfaktan yang berlebih namun juga mengubah komposisi dan biosurfaktan yang dihasilkan (Desai *and* Banat, 1997).

Makkar dan Cameotra (2002) menyebutkan bahwa sodium nitrat, potassium nitrat, dan urea merupakan sumber nitrogen yang paling baik untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan sumber nitrogen lain yang diujikan (*peptone, yeast extract, beef extract, tripton, ammonium nitrat, dan sodium sulfat*). Selain itu, Sandri (2009) menerangkan bahwa *L. spaerichus* dapat tumbuh optimum pada media *bushnel-haas* dengan urea sebagai sumber nitrogen pada pH 6, namun biosurfaktan yang dihasilkan

dapat lebih tinggi ketika ditumbuhkan dalam medium dengan ammonium nitrat dibandingkan dengan urea sebagai sumber nitrogen.

2. Sumber Nutrisi (mikro elemen)

Mikroorganisme membutuhkan sejumlah mikro elemen dalam pertumbuhannya meskipun dalam jumlah sedikit. Senyawa mikro elemen itu meliputi besi, mangan, seng, kobalt, dan iodium (Lechninger, 1997). Keberadaan mikro elemen dengan konsentrasi tertentu dapat merangsang produksi biosurfaktan. Desai *and* Banat (1997) melaporkan bahwa terbatasnya fosfat dapat merangsang produksi biosurfaktan pada *Pseudomonas aeruginosa*. Selain itu, adanya unsur besi dalam media pertumbuhan mampu menaikkan produksi biosurfaktan jenis rhamnolipid menjadi tiga kali lipat.

3. Usia Kultur

Faktor lain yang penting untuk memproduksi biosurfaktan dalam kultur *batch* adalah usia kultur. Produksi biosurfaktan secara signifikan meningkat pada saat memasuki fase stasioner sampai fase kematian bakteri (Mulligan *and* Gibs, 1993). Semakin tua usia kultur maka semakin banyak nutrisi yang digunakan oleh mikroorganisme, sehingga nutrisi dalam medium kultur *batch* semakin terbatas. Hal tersebut dapat mengakibatkan akumulasi produk sisa metabolisme yang menyebabkan perubahan pada metabolisme sel dan produksi biosurfaktan. Bertambahnya usia kultur dapat berhubungan pula dengan pembentukan

permukaan sel mikroba yang hidrofobik untuk digunakan dalam emulsi minyak dalam air (Budiarti, 2000).

4. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan yang berpengaruh dalam produksi biosurfaktan antara lain adalah pH, salinitas, temperatur, agitasi, dan ketersediaan oksigen. Beberapa faktor tersebut mempengaruhi produksi biosurfaktan dalam pertumbuhan dan aktivitas selnya. Kenaikan kecepatan agitasi menghasilkan penurunan produksi biosurfaktan oleh *Nocardia erythropolis* (Desai and Banat, 1997). Selain itu, pH dan temperatur berperan penting dalam produksi biosurfaktan. Produksi biosurfaktan oleh strain *Serratia marcescens* mencapai kestabilan maksimum pada saat temperatur antara 60 °C hingga 120 °C serta pH medium antara 10-12. Penelitian yang dilakukan Sandri (2009) menyebutkan bahwa pertumbuhan *L. spaerichus* dan aktivitas emulsi yang baik diperoleh pada pH 6.

Pembentukan biosurfaktan oleh sel juga dipengaruhi oleh salinitas serta kadar oksigen. Salinitas dapat berfungsi membantu keseimbangan konsentrasi mineral dalam sel. Al-Araji *et al.* (2007) menyebutkan bahwa pengaruh salinitas terhadap produksi biosurfaktan tergantung pada efek aktivitas seluler. Apabila salinitas terganggu, maka akan mempengaruhi pertumbuhan sel dalam produksi biosurfaktan. Pada kultur dengan kondisi oksigen terbatas, biosurfaktan yang terbentuk dapat menurunkan tegangan permukaan hingga

mencapai 30 mN/m dimana pada kondisi aerob penuh atau anaerob hanya mencapai 40 mN/m (Budiarti, 2000).

D. Karakterisasi biosurfaktan

Karakterisasi merupakan cara yang dilakukan untuk mengetahui bakteri yang berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan. Beberapa cara karakterisasi biosurfaktan diantaranya sebagai berikut:

1. Hemolisis

Pengujian pendahuluan terhadap bakteri potensial penghasil senyawa biosurfaktan dilakukan dengan metode lisis sel darah merah (hemolisis) menggunakan medium spesifik. Metode hemolisis merupakan metode kualitatif menggunakan sel darah merah sebagai media tumbuh kaya nutrisi bagi mikroba spesifik. Pembentukan zona hemolisis disebabkan oleh aksi strain bakteri mengeluarkan senyawa aktif glikolipid dalam substrat hidrofilik. Prinsip pengujian hemolisis adalah melihat perubahan warna media ketika bakteri ditumbuhkan di atas medium padat darah segar (Das *et al.*, 2008). Batista *et al.* (2006) menyatakan bahwa metode cawan darah agar merupakan metode penapisan awal sehingga perlu didukung pengujian lanjutan seperti pengukuran kemampuan emulsi dan aktivitas tegangan permukaan.

2. Tegangan permukaan

Tegangan permukaan merupakan gaya tarik menarik antara molekul-molekul pada permukaan cairan dengan udara yang cenderung menggerakkan molekul-molekul menuju bagian pusat cairan sehingga menyebabkan cairan membentuk lapisan tipis. Sedangkan tegangan antar muka yaitu gaya tarik menarik antara dua fase yang berbeda polaritasnya. Gugus hidrofilik menurunkan gaya kohesi dari molekul air sehingga akan menurunkan tegangan permukaan (Hargreaves, 2003).

Suryani *et al.* (2000) menerangkan bahwa penurunan tegangan antar muka akan menurunkan gaya kohesi dan sebaliknya meningkatkan gaya adhesi. Gaya kohesi adalah gaya antar molekul yang bekerja diantara molekul-molekul yang sejenis, sedangkan gaya adhesi adalah gaya antar molekul yang bekerja diantara molekul-molekul yang tidak sejenis. Menurut Farn (2006) semakin banyak molekul surfaktan yang terbentuk maka gaya kohesi air akan menurun dan dapat membuat tegangan permukaan semakin menurun. Molekul-molekul surfaktan mempunyai kecenderungan untuk berada pada permukaan sebuah cairan dan menurunkan jumlah total kerja untuk memperluas permukaan.

Tegangan permukaan dapat diukur dengan beberapa metode sebagai berikut:

a. Metode Cincin *Du Nuoy*

Suatu cincin Pt dimasukkan ke dalam cairan dan gaya yang diperlukan untuk memisahkan cincin dari permukaan cairan diukur.

b. Metode *Drop-Weigh*

Prinsip metode ini adalah gaya tegangan permukaan zat cair setimbang dengan gaya yang ditimbulkan berat zat cair sehingga cairannya akan menetes.

c. Metode Tekanan Maksimum Gelembung

Prinsipnya adalah tegangan permukaan dari tekanan maksimum yang dibentuk untuk mengeluarkan gelembung pada ujung pipa kapiler.

d. Metode Kenaikan Pipa Kapiler

Bila suatu pipa kapiler dimasukkan ke dalam cairan yang membasahi dinding, maka cairan akan masuk ke dalam kapiler karena adanya tegangan muka. Energi paling rendah di dapat saat lapisan tipis menutupi sebanyak mungkin kaca tersebut. Ketika lapisan tipis ini merembet keatas dinding bagian dalam, lapisan tipis itu mempunyai efek melengkungkan permukaan cairan ke dalam pipa. Kenaikan cairan sampai pada suatu tinggi tertentu terjadi keseimbangan antara gaya keatas dan ke bawah (Atkins, 1997).

3. Aktivitas emulsifikasi

Karakteristik utama biosurfaktan adalah antara lain mempunyai sifat tensioaktif, menghasilkan buih atau busa, dan membuat emulsi minyak dalam air atau air dalam minyak yang berperan seperti surfaktan sintesis. Bagian hidrofobik dari molekul ampifatik dibentuk oleh asam lemak yang bercabang dan panjang rantainya berbeda satu dengan spesies yang lain. Cabang yang mengandung gugus asam lemak akan berikatan dengan cabang yang

mengandung gugus asam amino. Bagian hidrofilik dari molekul amfifilik umumnya berupa peptida siklik yang mengandung tujuh asam amino (Duvnjak, 1982).

Emulsi merupakan dispersi suatu larutan dalam larutan lain yang molekul-molekul kedua campuran tersebut tidak saling bercampur atau bercampur sebagian. Pada suatu emulsi terdapat tiga bagian utama yaitu fase terdispersi, terdiri dari butir-butir yang biasanya terdiri dari minyak. Bagian kedua adalah zat pendispersi, biasanya air dan bagian ketiga adalah zat pengemulsi yang menjaga agar butir minyak tetap terdispersi dalam air. Selain itu penambahan bahan pengemulsi yang cukup ke dalam campuran dua larutan akan terbentuk lapisan utuh antara kedua cairan tersebut yang dapat menurunkan tegangan permukaan, sehingga tetap stabil dan lama (Claesson *et al.*, 2001).

Menurut Suryani *et al.* (2000) kestabilan emulsi pada suatu surfaktan adalah kesetimbangan antara gaya tarik menarik dan gaya tolak-menolak yang terjadi antar partikel dalam sistem emulsi. Apabila kedua gaya ini dapat dipertahankan tetap seimbang atau terkontrol, maka globula-globula fasa terdispersi dalam sistem emulsi dapat dipertahankan agar tidak bergabung. Adapun faktor-faktor yang menentukan kestabilan suatu emulsi adalah ukuran partikel dan distribusi, jenis emulsifier yang digunakan, rasio antara fasa terdispersi dan fasa pendispersi serta perbedaan tegangan antara dua fasa.

D. Bakteri Lipolitik

Bakteri lipolitik adalah bakteri yang memiliki aktivitas katalitik untuk memecah atau menghidrolisis lemak, fosfolipid dan turunannya. Beberapa contoh spesies bakteri lipolitik adalah: *Bukholderia*, *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermides* (Buckle *et al.*, 1985).

Selain bakteri lipolitik, terdapat mikroba lainnya seperti kapang dan khamir yang dapat menghasilkan enzim lipase. Enzim lipase merupakan produk metabolisme primer dari bakteri yang digunakan untuk memecah atau menghidrolisis lemak menjadi menjadi asam-asam lemak dan gliserol (Poedjiadi, 1994). Bakteri lipolitik dapat membantu pemecahan lemak pada makanan. Bakteri yang bersifat lipolitik kebanyakan merupakan bakteri yang bersifat aerobik (Fardiaz, 1992).

Lipase dari bakteri lipolitik kebanyakan diproduksi secara ekstraselular. Lipase dari bakteri memainkan peranan yang penting dalam kehidupan manusia seperti dalam pembuatan *yoghurt* dan keju. Lipase juga digunakan sebagai katalis yang murah dan serbaguna untuk mendegradasi lipid dalam aplikasi modern seperti penggunaan enzim lipase untuk pembuatan deterjen dan biokatalis, serta juga dapat digunakan sebagai energi alternatif untuk mengubah minyak tumbuhan menjadi bahan bakar. Pada hampir semua kasus, bakteri lipolitik berfungsi dengan

baik pada emulsi minyak dalam air, dimana kandungan air tinggi dan area *interfacial* untuk degradasi tersedia luas (Sharma *et al.*, 2001).

E. Limbah Kelapa Sawit

Produksi biosurfaktan dalam skala besar membutuhkan biaya yang cukup besar. Oleh karena itu upaya yang dilakukan untuk menekan biaya produksi salah satunya adalah menggunakan bahan alam terbarukan dari sumber substrat alternatif yang tidak mahal dari industri yang potensial, sebagai contoh limbah industri dari minyak kelapa sawit dan turunannya. Industri minyak kelapa sawit melakukan produksi *crude oil palm* dengan jumlah yang besar setiap tahunnya sehingga menghasilkan limbah hasil produksi yang besar juga.

Limbah yang keluar dari industri minyak kelapa sawit berbentuk padat, gas, dan cair. Limbah padat meliputi tandan kosong sekitar 23%, serat (sekitar 13,5%) dan cangkang (sekitar 5,5%). Limbah padat dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar, pupuk, pakan ternak. Limbah cair yang dikenal dengan *Palm Oil Mill Effluent* (POME) yang dihasilkan sebesar 55-67%. POME berupa air buangan yang berasal dari kondensat rebusan, air hidrosiklon, dan lumpur separator. POME memiliki kandungan BOD sebesar 230 mg/L dan COD sekitar 700 mg/L sehingga tidak dapat dibuang langsung ke lingkungan (Satriadi dkk., 2011). POME berwarna cairan coklat tua dan mempunyai bau asam yang kuat yang dapat mengurangi kadar oksigen dalam air, sehingga berbahaya bagi ekosistem perairan bahkan dapat menghilangkan keanekaragaman hayati di dalamnya.

Limbah cair yang keluar dari pengolahan minyak terdiri dari substansi beracun seperti polifenol. Limbah cair yang dibuang di kolam terbuka dapat melepaskan sejumlah gas metana dan gas CO₂ yang dapat menyebabkan emisi gas rumah kaca (Hamman *et al.*, 1999). Namun disamping itu limbah tersebut masih memiliki substansi organik yang berharga seperti senyawa gula, karbohidrat, nitrogen, asam organik, dan sisa lemak dan senyawa polifenol yang menyebabkan mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang. Nutrisi yang ada di dalam POME sangat lengkap karena terdapat karbohidrat, lemak dan protein (Crognale *et al.*, 2006). Limbah POME dapat bermanfaat dan berguna sebagai substrat media karena kandungan bahan organik, karbon serta nitrogennya. Proses dekomposisi dari senyawa-senyawa organik oleh bakteri anaerob dapat menghasilkan biogas (Mandaki *and* Cheng, 2013).

POME dapat dimanfaatkan sebagai media fermentasi, pembuatan pupuk, pakan ternak dan sumber energi. Produk yang dihasilkan oleh POME sebagai media fermentasi adalah insektisida, solven aseton butane etanol, polihidroksialkanoat, antibiotik, asam organik dan enzim. Penggunaan POME sebagai media fermentasi sangat menguntungkan karena POME masih mengandung konsentrasi yang tinggi dari karbohidrat, protein, nitrogen, lipida, dan mineral seperti Al dan Fe. Oleh karena itu POME dapat digunakan sebagai substrat media fermentasi untuk menghasilkan biosurfaktan (Wu *et al.*, 2007).

Pemanfaatan limbah cair pengolahan minyak sawit sangat potensial untuk disintesis menjadi biosurfaktan karena kandungan asam lemak, gula, dan protein.

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri yang membantu untuk menghasilkan biosurfaktan rhamnolipida. Benincasa (2002) menyebutkan *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan kandungan minyak sebagai sumber karbon untuk memproduksi biosurfaktan rhamnolipida melalui proses fermentasi sistem tumpak di dalam media garam mineral dengan produksi konsentrasi rhamnolipida maksimum 15,9 g/L. Pada penelitian Rahman *et al.* (2002) mengatakan bahwa biosurfaktan disintesis sebagian besar berasal dari minyak dan dikarakterisasi dapat mengurangi tegangan permukaan, kritis konsentrasi misel dan tegangan antarmuka di kedua larutan air dan campuran hidrokarbon.

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret - September 2019 di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

B. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia, erlenmeyer, cawan petri, tabung sentrifugasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, *freezer*, *autoclave* model S-90N, *shaker incubator*, inkubator, *laminar air flow* (LAF) Curma model 9005-FL, jarum ose, neraca analitik Ainsworth AA-160, *aluminium foil*, termometer, kompor, sentrifuga model 225 *Fisher Scientific*, pH meter Metrohm Mobile 826, *vortex*, *hotplate*, bunsen, spatula, *magnetic stirrer*, oven, gelas ukur, mikropipet Eppendorff, dan spektrofotometer *UV-Vis Carry Win UV 32*.

Adapun bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri lipolitik (LKM D₁, LKT B₁, LKM C₂), limbah cair kelapa sawit, kapas, kasa,

kertas cakram steril, oli bekas, darah kambing, *nutrient agar*, *nutrient broth*, *blood agar base*, aquades, N-heksana, serta media MSM (*Mineral Salt Medium*) antara lain Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , HCl , NaOH , KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, *yeast extract*, dan glukosa.

C. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

Pada penelitian ini dilakukan tahap persiapan alat dan bahan yang akan digunakan. Peralatan yang akan digunakan disterilisasi untuk menghindari kontaminasi oleh kontaminan yang tidak diinginkan. Sterilisasi ini dilakukan dengan menggunakan *autoclave* dengan cara menyiapkan terlebih dahulu alat-alatnya, kemudian dicuci, dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas menutupi seluruh permukaan alat. Selanjutnya alat-alat tersebut dimasukkan dalam *autoclave* dengan temperatur $121\text{ }^\circ\text{C}$ tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, alat-alat dikeringkan dan disimpan dalam oven.

2. Pembuatan Media

a. Media *Nutrient Agar*

Media *Nutrient Agar* digunakan untuk meremajakan isolat bakteri lipolitik. Media ini dibuat dengan cara melarutkan 2,8 g *nutrient agar* dalam 100 mL aquades. Selanjutnya media dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan

ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan sumbat. Kemudian media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu tabung reaksi berisi media diletakkan dalam posisi miring.

b. Media *Nutrient Broth*

Media *Nutrient Broth* merupakan media yang digunakan sebagai media inokulum atau adaptasi bakteri. Media ini dibuat dengan cara melarutkan 13 gram NB dengan 1000 mL aquades dalam Erlenmeyer dan dipanaskan hingga mendidih. Kemudian ditutup dengan sumbat dan media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, media disimpan dalam *laminar air flow* dan siap untuk digunakan.

c. Media *Blood Agar*

Media *Blood Agar* merupakan media untuk uji hemolisis dimana uji ini dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri yang berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan. Sebanyak 40 g bubuk media *blood Agar Base* ditimbang dan dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Kemudian media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu didinginkan sampai temperatur 55 °C dan ditambahkan 5% darah kambing. Selanjutnya media dituang ke dalam cawan petri yang steril hingga membeku dan siap untuk digunakan.

d. Media Mineral Salt Medium (MSM)

Media *Mineral Salt Medium* (MSM) merupakan media selektif untuk pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan. Media ini dibuat dengan cara masing-masing bahan: 2 g KH_2PO_4 , 5 g K_2HPO_4 , 3 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,1 g NaCl, 0,01 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,01 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,002 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dan 0,3 g glukosa serta 0,3 g *yeast extract* ditimbang dan dilarutkan dengan 1000 mL aquades steril kemudian dihomogenkan dengan *stirrer*. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditutup dengan sumbat lalu disterilkan dalam *autoclave* pada temperatur 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, media disimpan dalam *laminar air flow* dan siap untuk digunakan.

3. Peremajaan Isolat Bakteri Lipolitik

Peremajaan isolat bakteri lipolitik dilakukan untuk menjaga nutrisi isolat bakteri yang digunakan sebagai stok kultur untuk menguji bakteri lipolitik yang berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan serta optimasi produksi biosurfaktan. Peremajaan ini dilakukan pada media *nutrient agar* miring. 1 ose isolat bakteri lipolitik (LKM D₁, LKT B₁, LKM C₂) diinokulasikan ke permukaan media secara zig-zag kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu biakan hasil peremajaan siap digunakan sebagai stok kultur dan disimpan didalam lemari pendingin 4 °C (Kalyani *et al.*, 2014).

4. Uji Biosurfaktan

Uji biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri lipolitik yang digunakan dalam menghasilkan biosurfaktan. Uji ini dilakukan dengan beberapa cara antara lain dengan uji hemolisis, uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse*.

a. Uji Hemolisis

Uji hemolisis merupakan uji pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui bakteri penghasil biosurfaktan dengan mengamati aktivitas hemolisis bakteri menggunakan media agar darah (*blood agar*). Uji ini dilakukan dengan cara kertas cakram steril dicelupkan ke dalam kultur cair bakteri yang diuji.

Kemudian diletakkan di atas permukaan media *blood agar plate*. Setelah itu diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37 °C selama 48-72 jam.

Selanjutnya diamati terbentuknya zona bening disekitar koloni yang tumbuh pada media dan diukur zona beningnya. Aktifitas hemolisis yang ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri dapat menjadi indikator terbentuknya biosurfaktan (Das *et al.*, 2008).

b. Uji Emulsifikasi

Uji emulsifikasi merupakan uji untuk mengetahui bakteri yang memiliki aktivitas biosurfaktan. Uji dilakukan dengan cara kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10000 rpm selama 20 menit sehingga

supernatan dan pelet terpisah. Selanjutnya sebanyak 2 mL supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL n-heksana sebagai substrat non polar pembentuk emulsi. Campuran tersebut divorteks dengan kecepatan tinggi selama 2 menit kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam dan diukur tinggi emulsinya (Pereira *et al.*, 2013).

Indeks emulsifikasi (%) ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks emulsifikasi (\%)} = \frac{\text{tinggi lapisan teremulsi (cm)}}{\text{tinggi total cairan (cm)}} \times 100\%$$

c. Uji *Oil Spreading*

Uji *oil spreading* digunakan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dari bakteri yang diuji dengan mengamati kemampuan bakteri dalam menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air. Sebelum melakukan uji kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Uji dilakukan dengan cara sebanyak 30 mL aquades dimasukkan ke dalam cawan petri pada tempat yang datar, kemudian ditambahkan 1 mL oli bekas. Setelah itu dimasukkan secara perlahan 20 μ L supernatan kultur pada tengah lapisan oli bekas. Uji positif dapat teramati apabila terjadi zona bening akibat penyisihan lapisan oli bekas oleh biosurfaktan (Morikawa *et al.*, 2000).

d. Uji *Drop Collapse*

Uji *drop collapse* merupakan uji cepat untuk mengetahui adanya aktivitas biosurfaktan dari bakteri yang diuji. Sebelum melakukan uji kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Uji ini dilakukan dengan cara meneteskan 10 μ L supernatan ke atas 20 μ L oli bekas di atas permukaan kaca yang datar. Setelah itu aktivitas biosurfaktan diamati berdasarkan atas penambahan luas permukaan senyawa uji dibandingkan dengan kontrol media (Plaza *et al.*, 2006).

5. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Penghasil Biosurfaktan

Pembuatan kurva pertumbuhan bakteri dilakukan untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan. Pembuatan kurva pertumbuhan diawali dengan cara 1 ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam 20 mL media cair NB, kemudian biakan bakteri diinkubasi pada *shaker incubator* pada suhu kamar dengan kecepatan 110 rpm selama 24 jam. Setelah itu hasil biakan dipindahkan sebanyak 1% dari media NB ke dalam media MSM. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama 120 jam. Pengukuran nilai OD (*optical density*) dilakukan setiap 12 jam sekali. Sebanyak 0,3 mL kultur dan 2,7 mL aquades dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 600 nm.

Setelah itu dilakukan pembuatan kurva pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Francy *et al.*, 1991).

6. Optimasi Produksi Bakteri Lipolitik Penghasil Biosurfaktan

Optimasi produksi dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum produksi bakteri lipolitik penghasil biosurfaktan. Optimasi produksi dilakukan dengan variasi waktu, pH, dan kadar salinitas media pertumbuhan bakteri.

a. Optimasi Waktu Produksi Biosurfaktan

Optimasi waktu dilakukan untuk mengetahui waktu optimal produksi biosurfaktan dengan penambahan limbah cair kelapa sawit sebagai substrat media. Optimasi waktu dilakukan dengan cara hasil biakan masing-masing isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam campuran media MSM dengan 10% limbah cair kelapa sawit. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama 120 jam. Pengukuran nilai OD (*optical density*) dilakukan setiap 12 jam sekali. Sebanyak 0,3 mL kultur dan 2,7 mL aquades dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer *UV-Vis* pada panjang gelombang 600 nm untuk menentukan waktu produksi optimum (Yakimov *et al.*, 1995).

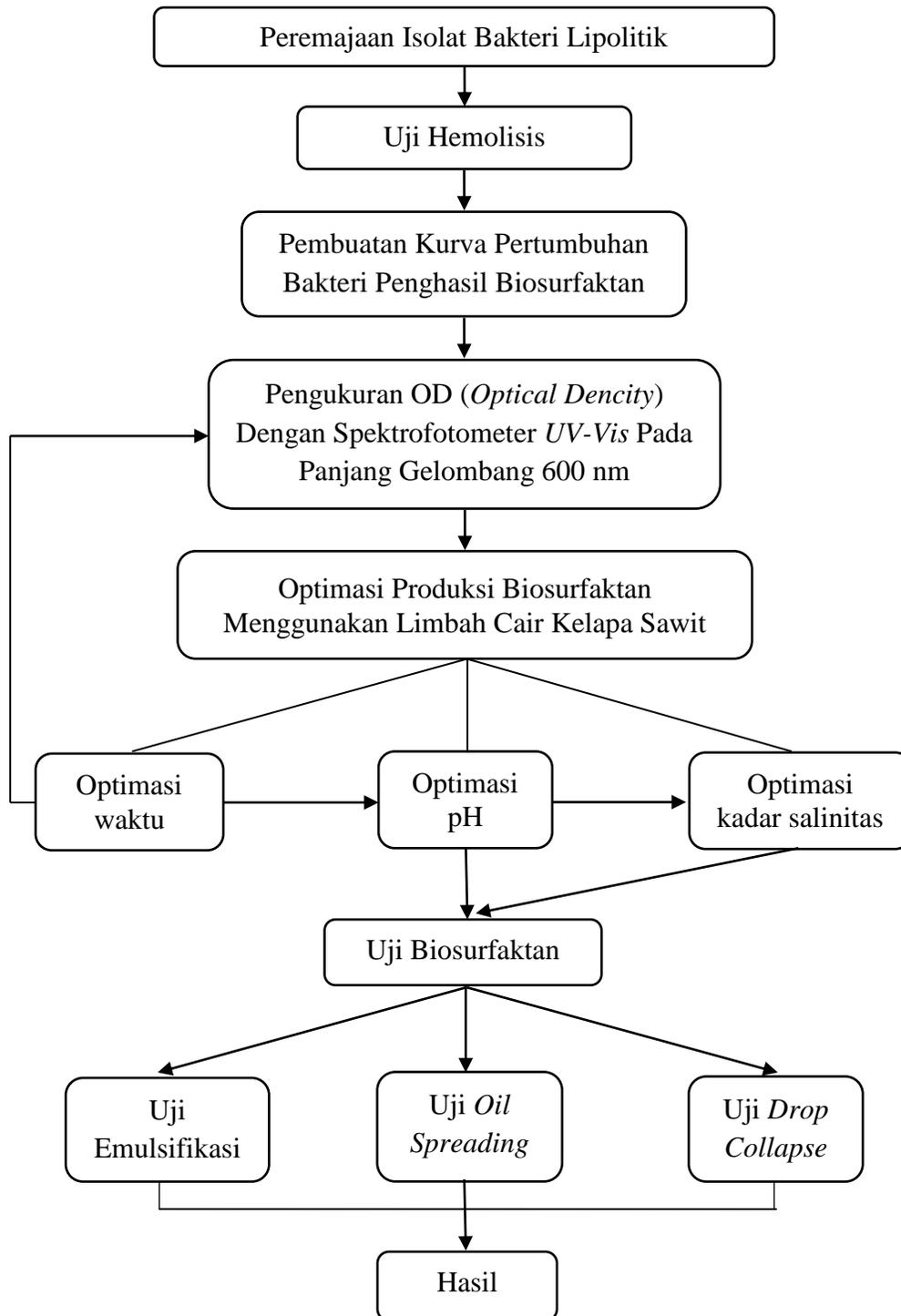
b. Optimasi pH Produksi Biosurfaktan

Optimasi pH dilakukan untuk mengetahui pH yang optimal dalam produksi biosurfaktan. Optimasi pH dilakukan dengan cara hasil biakan masing-masing isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam media MSM dan 1% ke dalam campuran media MSM dengan 10% limbah cair kelapa sawit dengan variasi pH 5; 6; 7; 8 dan 9. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama waktu produksi optimum dari masing-masing isolat bakteri. Kemudian dilakukan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Yakimov *et al.*, 1995).

c. Optimasi Kadar Salinitas Produksi Biosurfaktan

Optimasi kadar salinitas dilakukan untuk mengetahui kadar salinitas yang optimal untuk produksi biosurfaktan. Optimasi kadar salinitas dilakukan dengan cara hasil biakan masing-masing isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam media MSM dan 1% ke dalam campuran media MSM dengan 10% limbah cair kelapa sawit dengan variasi kadar salinitas 0,5; 1; 3; 5 dan 9%. Variasi kadar salinitas diatur dengan penambahan NaCl. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama waktu dan pH optimum. Kemudian dilakukan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Prommachan *et al.*, 2001).

Bagan alir penelitian dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 1. Bagan alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh simpulan bahwa:

1. Isolat bakteri lipolitik LKM D₁, LKT B₁, dan LKM C₂ berpotensi menghasilkan biosurfaktan serta mampu memanfaatkan limbah cair kelapa sawit sebagai substrat pertumbuhan.
2. Limbah cair kelapa sawit yang digunakan sebagai substrat mampu meningkatkan produksi biosurfaktan dengan meningkatnya kepadatan sel bakteri.
3. Produksi biosurfaktan dengan menggunakan media MSM dan 10 % limbah cair kelapa sawit dari isolat bakteri lipolitik LKM D₁, LKT B₁, dan LKM C₂ optimum pada jam ke-108.
4. Produksi biosurfaktan dengan menggunakan media MSM dan 10 % limbah cair kelapa sawit dari isolat bakteri lipolitik LKM D₁ optimum pada pH 7 dan kadar salinitas 0,5 %, LKT B₁ optimum pada pH 8 dan kadar salinitas 1 %, serta LKM C₂ optimum pada pH 9 dan kadar salinitas 1 %.

B. Saran

Berdasarkan penelitian ini, terdapat beberapa saran untuk penelitian selanjutnya:

1. Melakukan pengukuran indeks emulsifikasi dalam setiap jam pengukuran kurva pertumbuhan.
2. Melakukan optimasi produksi biosurfaktan menggunakan limbah cair kelapa sawit dengan konsentrasi yang berbeda-beda serta melakukan karakterisasi biosurfaktan yang dihasilkan.
3. Melakukan identifikasi molekular terhadap isolat-isolat bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan.

DAFTAR PUSTAKA

- AL-Araji, L., Rahman, R. N., Basri, M., and Salleh, A. B. 2007. Microbial Surfactant. *J. Molecular Biol and Biotechn.* 15(3):99-105.
- Atlas, R. M. 1991. Microbial Hydrocarbon Degradation Bioremediation of Oil Spil. *J. Chem Tech Biotechnol.* 52:149-15.
- Atkins, P. W. 1997. *Kimia Fisika Jilid I.* Erlangga. Jakarta.
- Banat, I. M., Franzeti, A., Bestetti, I., Martinotti, M. G., Fracchia, L., Smyth, T. J., and Marchant, R. 2010. Microbial Biosurfactants Production, Application and Future Potential. *J. Appl Microbiol and Biotechnol.* 87(2):427-444.
- Batista, S., Mounteer, A., and Amorim, F. 2006. Isolation and Characterization of Biosurfactant Producing Bacteria from Petroleum Contaminated Sites. *J. Bioresour Technol.* 97:868-875.
- Benincasa, M. 2002. Rhamnolipid Production by *P. aeruginosa* LB1 growing on Buchanan S. and Gaylenn, S. *CRB Commodity Year Book.* Knight-Ridder Financial Publishing. New York.
- Bharali, P., Das, S., Konwar, B. K., and Tahkur, A. J. 2011. Crude Biosurfactant from Thermophilic *Alcaligenes faecalis*: Feasibility in Petro-spill Bioremediation. *J. International Biodeteriation and Biodegradation.* 65:682-690.
- Bidlan, R., Deepthi, N., Rastogi, N. K., and Manonmani, H. K. 2007. Optimised Production of Biosurfactant by *Serratia marcescens* DT-IP. *J. OF Mikrobiol.* 2(10):705-716.
- Buckle, K. A., Edwards, R. A., Fleet, G. H., dan Wootton. 1987. *Ilmu Pangan. Penerjemah: Hari Purnomo dan Adiono.* UI-Press. Jakarta.
- Budiarti, R. S. 2000. Optimasi Konsentrasi *Crude Oil* dan Sumber Nitrogen Pada Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik. (Tesis). Intitut Teknologi Bandung. Bandung.

- Chandankere, R., Yao, J., Cai, M., Masakorala, K., Jain, A.K. and Choi, M. F. 2014. Properties and Characterization of Biosurfactant in Crude Oil Biodegradation by Bacterium *Bacillus methylotrophicus* USTBa. *J. Fuel*. 122:140-148.
- Claesson, P. M., Blomberg, E., and Poptoshev, E. E. 2001. *Surface Force and Emulsion Stability*. In: *Encyclopedia Handbook of Emulsion Technology*. Marcel Dekker. New York.
- Crognale, S., D'Annibale, A., Federici, F., Fenice, M., Quaratino, D., and Petruccioli, M. 2006. Olive Oil Mill Wastewater Valorisation by Fungi. *J. of Chemical Technology and Biotechnology*. 81:1547-1555.
- Das P, S., Mukherjee., and Sen, R. 2008. Antimicrobial Potential of a Lipopeptide Biosurfactant Derived from a Marine *Bacillus circulans*. *J. Appl Microbiol*. 104:1675-1684.
- Desai, J. D. and Banat, I. M. 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. *J. Microbiol and Molecular Biol*. 5(2):47-64.
- Desai, J. D. and Desai, A. J. 1993. Production of Biosurfactant. In: *Biosurfactant: Production, Properties, Application*. Kosari (ed). Marcel Dekker. New York.
- Devianto, L. A. dan Kardena, E. 2010. Pengaruh Glukosa terhadap Produksi Biosurfaktan oleh *Azotobacter vinelandii* dan Pengaruh Biosurfaktan Terhadap Biodegradasi TPH oleh Konsorsium Bakteri Petrofilik. *J. Biotechnology*. 8(1):1-10.
- Duvnjak, Z., Cooper, D. G., and Kosaric, N. 1982. Production of surfactant by *Arthrobacter Parafineus* ATCC 19558. *J. biotechnol*. 24:165-175.
- Elazzazya, A. M., Abdelmoneim, T. S., and Almaghrabi, O. A. 2015. Isolation and Characterization of Biosurfactant Production Underextreme Environmental Conditions by Alkali-halo-thermophilicbacteria from Saudi Arabia. *J. of Biological Sciences*. 22(4):466-475.
- El-Sersy, N. 2012. A Plackett-Burman design to optimize biosurfactant production by marine *Bacillus subtilis* N10. Rom. *J. Biotechnol*. 17(2):7049-7064.
- El-Sheshtawy, H. S. and Doheim, M. M. 2014. Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for Biosurfactant Production and Studies of its Antimicrobial Activity. *J. of Petroleum*. 23:1-6.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

- Farn, R. J. 2006. *Chemistry and Technology of Surfactants*. Blackwell Publishing. Oxford.
- Fiechter, A. 1992. Biosurfactants: Moving Towards Industrial Application. *J. Tibtech.* 10:208-210.
- Fouda, A., El-Gamal, M. S., Abdel-Shakour, E. H., and Radwan, A. A. 2016. Optimization and improvement of biosurfactant production for *Pseudomonas aeruginosa* 4.2 and *Bacillus cereus* 2.3 strains isolated from oily polluted soil sample. *Int J. Adv Res Biol. Sci.* 3(1):76-87.
- Francy, D. S., Thomas, R. L., and Ward, C. H. 1991. Emulsification of Hydrocarbons by Surface Bacteria. *J. Ind Microbiol.* 8:237-246.
- Fransiska, L. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Lipolitik Pada Proses Pengomposan Limbah Domestik. (Skripsi). Universitas Lampung. Lampung.
- Fukuoka, T., Morita, T., Konish, M. Imura, T., and Kitamoto, D. 2007. Characterization of New Type of Mannosylerythritol Lipids as Biosurfactants Produced from Soybean Oil by a *Basidiomycetous Yeast, Pseudozyma shanxiensis*. *J. Oleo Sci* 8:435-442.
- Gosalam, S., Tahir, A., dan Silviana, J. L. 2008. Uji Kemampuan Bakteri dari Perairan dalam Mendegradasi Senyawa Minyak Solar. *J. Torani.* 18(2):171-178.
- Hamman, O., Rubia, B. T., and Martinez, J. 1999. Decolorization of Olive Oil Mill Waste Water by *P. hanerochaete* Flavido-alba. *J. Environmental Toxicology Chemistry.* 18:2410-2415.
- Hargreaves, T. 2003. *Chemical Formulation: An Overview of Surfactant-Based Preparations Used In Everyday Life*. RSC Paperbacks. Cambridge.
- Himeka, Y. and Kaneko, K. 2016. Theory for transition between log and stationary phases: universal laws for lag time. *J. Biol Phys.* 1-17.
- Ikhwani, A. Z. 2017. Optimasi Produksi Biosurfaktan dari *Pseudomonas aeruginosa* dengan Perbedaan pH Media dan Sumber Karbon Minyak Mentah. (Skripsi). Intitut Pertanian Bogor. Bogor.
- Ilori, M. O., Amobi, C. J., and Odocha, A. C. 2005. Factors Affecting Biosurfactant Production by Oil Degrading *Aeromonas spp.* Isolated from a Tropical Environment. *J. Chemosphere.* 985-992.

- Jahangeer and Kumar, V. 2013. An Overview on Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants. *Int J. Eng Tech Res.* 1(8):34-37.
- Joshi, S., Bharucha, C., Jha, S., Yadav, S., Nerurkar, A., and Desai, A. J. 2008. Biosurfactant Production Using Molasses and Whey Under Thermophilic Conditions. *J. Bioresour Technol.* 99(1):195–199.
- Kalyani, A. L., Naga, S. T., Sangkar, G. G., and Prabhakar, T. 2014. Isolation and Antimicrobial Activity of Rhamnolipid Biosurfactant from Oil Contaminated Soil Sample Using Humic Acid Salts Vitamin Agar. *J. of Research in Eng and Techn.* 3:357- 364.
- Kosaric, N. 2001. Biosurfactant and Their Applications for Soil Bioremediation. *J. Food Techn.* 39(4):295-304.
- Kosaric, N. 1992. Biosurfactants in Industry. *J. Pure and applied Chemistry.* 64:1731-1737.
- Lechninger. 1997. *Microbiology: A Laboratory Manual.* Adison-Wesley Publishing Company. California.
- Lin Soo, E., Basri, M. A., Salleh, B., and Kamaruddin, K. 2003. Optimization of the Enzyme-Catalyzed Synthesis of Amino Acid-Based Surfactants from Palm Oil Fractions. *J. of Bioscience and Bioengineering.* 95:361-368.
- Maier, R. M. 2000. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential application. *J. Appl Microbiol Biotechnol.* 54: 625-633.
- Makkar, R. S. and Cameotra, S. S. 1998. Production of Biosurfactant at Misophilik and Termophilik Condition by a Strain of *Bacillus subtilis*. *J. of Industrial Microbiology and Biotechnology.* 20:48-52.
- Makkar, R. S. and Cameotra, S. S. 2002. Effect Various Nutritional Supplements on Biosurfactant Production by a Strain of *Bacillus substilis* at 45 °C. *J. of Surfactant and Detergent.* 5(1):11-17.
- Mandaki, Y. S. and Cheng, L. 2013. Palm Oil Mill Effluent (POME) from Malaysia Palm Oil Mill: Waste or Resource. *Int J. of Science, Environment and Technology.* 2(6):1138-1155.
- Morikawa, M., Hirata, Y., and Imanaka, T. 2000. A Study on The Structure-function Relationship of Lipopeptides Biosurfactants. *J. of Biochem.* 1488:211-218.

- Mousa, T. A., Mohamed, M. S, and Samak, N. 2014. Production and characterization of di-rhamnolipid produced by *Pseudomonas aeruginosa* TMN. *Braz J. Chem Eng.* 31(04): 867-880.
- Mulligan, C. N. and Gibbs, B. F. 1993. *Factors Influencing the Economics of Biosurfactant*, in Kosaric, N (ed): *Biosurfactant Production, Properties and Applications*. Marcel Dekker. New York.
- Nitschke, M., Costa, S., and Contiero, J. 2010. Structure and application of a rhamnolipid surfactant produced in soybean oil waste. *J. Appl Biochem Biotechnol.* 160:2066-2074.
- Nurani, D. dan Marsudi, S. 2013. *Produksi Biosurfaktan Ramnolipid Oleh Pseudomonas aeruginosa IFO 3924 dengan Teknik Kultivasi Umpan Curah dan Sumber Karbon Kelapa Sawit*. Universitas Terbuka. Tangerang Selatan.
- Pereira, J., Gudiña, P. B., Cosra, E. J., Vitorino, R., Teixeira, R., Coutinho, J. A., and Rodrigues, L. R. 2013. Optimization and Characterization of Biosurfactant Production by *Bacillus subtilis* Isolates Towards Microbial Enhanced Oil Recovery Applications. *Fuel.* 111:259-268.
- Plaza, G. A., Zjawioni, I., and Banat, I. M. 2006. Use of Different Methods for Detection of Thermophilic Biosurfactant-producing Bacteria from Hydrocarbon-contaminated and Bioremediated Boils. *J. of Petroleum Sci and Eng.* 50:71-77.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. UI-Press. Jakarta.
- Priadie, B. 2012. Teknik Bioremediasi Sebagai Alternatif Dalam Upaya Pengendalian Pencemaran Air. *J. Ilmu lingkungan.* 10(1):38-48.
- Priyani, N., Munir, E., dan Ridha, N. 2011. *Optimasi produksi biosurfaktan oleh Pseudomonas aeruginosa dengan variasi sumber karbon dan nitrogen medium*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Prommachan., Kitikun, H., and Kawai, F. 2001. *Production of Biosurfactant from Bacillus MUV4*. The Annual Meeting of Thai Society for Biotechnology, Bio Thailand: From Research to Market. Thailand.
- Rahman, K., Rahman, S. M., Lakshmanaperumalsamy, T. J., Marchant, R., and Banat, I. M. 2002. Emulsification Potential of Bacterial Isolates with a Range of Hydrocarbon Substrates. *J. Acta Biotechnological.* 23:335-345.

- Rashedi, H., Assadi, M. M., Bonakdapour, B., and Jamshidi, E. 2005. Environmental Importance of Rhamnolipid Production from Molasses as a Carbon Source. *Int J. Envir Sci Tech.* 2(1):59-62.
- Ratih, S. dan Eviyati, R. 2007. Pestisida Organik Berbahan Aktif Bakteri Agensia Hayati yang Efektif Mengendalikan Pustul Kedelai. *J. Agrijati.* 6 (1):30-34.
- Rau, U. L., Nguyen, A., and Lang, S. 2005. Downstream Processing of Mannosylerythritol Lipids Produced by *Pseudozyma aphidis*. *J. of Lipid Science Technology.* 107:373-380.
- Rodrigues, L., Banat, I. M., Teixeira, J., and Oliveira, R. 2006. Biosurfactants: Potential Applications in Medicine. *J. Antimicrobe Chemother.* 57:609-618.
- Ruzniza. 2005. Production of Biosurfactant by Locally Isolated Bacteria From Petrochemical Waste. (Thesis). Faculty of Science University Teknologi Malaysia. Malaysia.
- Sahara, B. S., Sahu, S. K., and Sharma, D. 2011. An Overview on Biosurfactants. *J Genetic Engineering and Biotechnology.* 20(2):29-32.
- Sahoo, S., Datta, S., and Biswas, D. 2011. Optimization of culture condition for biosurfactant production from *Pseudomonas aeruginosa* OCD1. *J. Adv Sci Res.* 2(3):32-36.
- Saikia, R., Deka, R., Deka, S., and Sarma, H. 2011. Optimization of Environmental factors for Improved Production of Rhamnolipid Biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* RS29 on Glycerol. *J. Basic Microbiol.* 51:1-12.
- Samadi, N. N., Abadian, A., Akhavan, M. R., Fazeli, A., Tahzibi., and Jamalifar, H. 2007. Biosurfactant Production by The Strain Isolated Contaminated Soil. *J. Biol Sciench.* 7(7):1266-1269.
- Sandri, D. 2009. Bakteri Hidrokarbonalklastik Tanah Tercemar Penghasil Biosurfaktan: Skrining dan Identifikasi Bakteri, Optimasi Produksi dan Karakterisasi Produknya. (Tesis). Universitas Brawijaya. Malang.
- Satriadi, H. Widayat., Hadiyanto., Irzandi, U., dan Yonas, R. 2011. Proses Pengolahan Limbah Industri Kelapa Sawit Dengan Mikroalga Liar. *J. Techn.* 1(1):15-17.
- Sharma, R., Chisti, Y., and Banerjee, C. U. 2001. Production, Purification, Characterization, and Applications of Lipase. *J. Biotechnol.* 19:627-662.

- Singh, V. 2012. Biosurfactant - isolation, Production, Purification and Significance. *Int J. Sci Res Pub.* 2(7):1-4.
- Singh., Marinalini., Sedhuraman., and Padmavathy. 2015. Biosurfactant, Polythene, Plastic, and Diesel Biodegradation Activity of Endophytic *Nocardia* sp. Marinalini Isolated from *Hibiscus rosasinensis* Leaves. *J. Bioresources and Bioprocessing.* 2(10):1186-1198.
- Suryani, A., Sailah, I., dan Hambali, E. 2000. *Teknologi Emulsi.* Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Bogor.
- Suryanti, V., Hastuti, S., Handayani, D. S., dan Windrawati. 2014. Biosintesis Biosurfaktan Oleh *Pseudomonas aeruginosa* Menggunakan Limbah Cair Industri Tapioka Sebagai Media. *J. Penelitian kimia.* 10(1):22-30.
- Suryatmana, P., Kardena, E., Ratnaningsih, E., dan Wijnuprpto. 2006. Karakteristik Biosurfaktan dari *Azotobacter chroococcum*. *J. Micro Ind.* 2(1):30-34.
- Tabatabaee, A., Assadi, M. M., Noohi, A. A., and Sajadian, V. A. 2005. Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria from Oil Reservoirs. *J. Env. Health Sci.* 2(1):6-12.
- Takahashi, M., Morita, T., Wada, K., Hirose, K., Fukuoka, T., Imura, T., and Kitamono, D. 2011. Production of Sophorolipid Glycolipid Biosurfactants from Augarcane Molasses Using *Starmerella bombiicola* NBRC 10243. *J. Oleo Sci.* 60:267-273.
- Wibisana, A. 2018. Isolasi dan Skrining Mikroba Penghasil Biosurfaktan Dari Air Laut Tercemar Minyak. *J. Ilmiah teknik kimia UNPAM.* 2(2):11-18.
- Widjajanti, H., Ridho, M., dan Munawar. 2008. *Upaya Rehabilitasi Hutan Mangrove: Studi Modelling Bioremediasi Menggunakan Agen Biologis Indigenous untuk Menurunkan bahan Pencemar di Hutan Mangrove Wilayah Provinsi Sumatera Selatan.* Universitas Sriwijaya. Palembang.
- Wu, T. Y., Mohammad, A. W., Jahim, J. M., and Anuar, N. 2007. Palm Oil Mill Effluent (POME) Treatment and Bio Resources Recovery Using Ultrafiltration Membrane: Effect of Pressure on Membrane Fouling. *J. Biochemical Engineering.* 35:309-17.
- Yakimov, M., Timmis, M., Wray, K. N., and Fredickson, H. L. 1995. Characterization of a New Lipopeptide Surfactant Produced by Thermotolerant and Halotolerant Subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50. *J. Appl Environ Microbiol.* 61(5):1706-1713.

Youssef, N. H., Duncana, K. E., Naglea, D. P., Savagea, K. N., Knappb, R. M., and McInerney, M. J. 2004. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *J. Microbiol.* 56:339-347.