

**OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI INDIGEN
ISOLAT BSPP-1c ASAL SEDIMEN PERAIRAN PELABUHAN PANJANG**

(Skripsi)

Oleh

**Ani Nurhayati
1517011054**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

**OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI INDIGEN
ISOLAT BSPP-1c ASAL SEDIMEN PERAIRAN PELABUHAN PANJANG**

Oleh

Ani Nurhayati

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
2022**

ABSTRAK

OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI INDIGEN ISOLAT BSPP-1c ASAL SEDIMEN PERAIRAN PELABUHAN PANJANG

Oleh

ANI NURHAYATI

Biosurfaktan adalah surfaktan alami yang diproduksi oleh mikroba dari habitat aslinya atau biasa disebut bakteri indigen. Produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh beberapa faktor. Substrat pertumbuhan seperti sumber karbon dan nitrogen adalah salah satu faktor penting yang mempengaruhi hasil akhir biosurfaktan. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan kondisi optimum bakteri indigen isolat BSPP-1c asal sedimen perairan pelabuhan Panjang dalam memproduksi biosurfaktan dan mengetahui karakteristik biokimianya. Metode yang dilakukan meliputi peremajaan isolat BSPP-1c, pengujian hemolisis, karakterisasi biokimia, pembuatan kurva pertumbuhan, optimasi kondisi pertumbuhan dan uji biosurfaktan. Hasil uji hemolisis menunjukkan bahwa isolat BSPP-1c memiliki aktivitas α -hemolisis. Karakteristik biokimia menunjukkan bahwa isolat BSPP-1c berbentuk bulat dengan tepian halus, elevasi cembung, berwarna jingga, Gram negatif dan uji katalase positif yang merupakan karakteristik untuk golongan *Neisseria*. Isolat BSPP-1c memiliki kondisi optimum pada waktu inkubasi 96 jam, konsentrasi inokulum optimum 5% dengan hasil pengujian %IE 100%, *oil spread* 7 mm dan *drop collapse* positif. Sumber karbon terbaik menggunakan glukosa 2% dengan hasil pengujian %IE 84,21%, *oil spread* 21 mm dan *drop collapse* positif dan sumber nitrogen terbaik urea 0,3% dengan hasil pengujian %IE 77,78%, *oil spread* 30 mm dan *drop collapse* positif. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri indigen isolat BSPP-1c merupakan bakteri *Neisseria* yang dapat memproduksi biosurfaktan pada waktu inkubasi 96 jam dengan kondisi pertumbuhan menggunakan sumber karbon glukosa 2%, sumber nitrogen urea 0,3% dan konsentrasi inokulum 5%.

Kata Kunci : Biosurfaktan, Bakteri indigen, *Neisseria*, Pelabuhan Panjang, Indeks Emulsi

ABSTRACT

OPTIMIZATION OF BIOSURFACTANT PRODUCTION FROM INDIGENOUS BACTERIA ISOLATES BSPP-1c FROM SEDIMENTS OF PANJANG PORT

BY

ANI NURHAYATI

Biosurfactants are surfactants produced by microbes from their natural habitat called indigenous bacteria. Biosurfactant production is influenced by several factors. Growth substrates such as carbon and nitrogen sources are one of the important factors affecting the final biosurfactant yield. The purpose of this study was to obtain the optimum conditions for indigenous bacteria isolated from BSPP-1c from the sediments of Panjang Port waters in producing biosurfactants and to determine their biochemical characteristics. The methods used include rejuvenation of BSPP-1c isolate, hemolysis testing, biochemical characterization, growth curve making, optimization of growth conditions and biosurfactant tests. The result hemolysis test showed that BSPP-1c isolate had α -hemolytic activity. Biochemical characteristics showed that the isolate BSPP-1c was round with smooth edges, convex elevation, orange color, Gram negative and positive catalase test which were characteristics for the *Neisseria* group. The BSPP-1c isolate had optimum conditions at 96 hours of incubation, 5% optimum inoculum concentration with the test results optimum of 100% IE, 7 mm oil spread and positive drop collapse. The best carbon source using 2% glucose with the test results of %IE 84.21%, oil spread 21 mm and drop collapse positive and the best nitrogen source 0.3% urea with the test results of %IE 77.78%, oil spread 30 mm and drop positive collapse. Based on this circumstances, it can be concluded that the indigenous bacteria isolated from BSPP-1c is a *Neisseria* bacterium. The biosurfactants at an incubation the producing of biosurfactant time of 96 hours with growth conditions using 2% glucose carbon source, 0.3% urea nitrogen source and 5% inoculum concentration.

Keywords: Biosurfactant, Indigenous bacteria, *Neisseria*, Panjang Port, Emulsification indeks.

Judul Skripsi : **OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN
DARI BAKTERI INDIGEN ISOLAT BSPP-1c
ASAL SEDIMEN PERAIRAN PELABUHAN
PANJANG**

Nama Mahasiswa : Ani Nurhayati

Nomor Pokok Mahasiswa : 1517011054

Jurusan / Program Studi : Kimia / S1

Fakultas : Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam

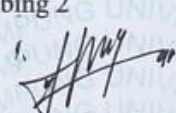


1. Komisi Pembimbing

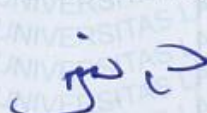
Pembimbing 1

Pembimbing 2


Dra. Aspita Laila, M.Si.
NIP. 196009091988112001


Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.
NIP. 197412111998022001

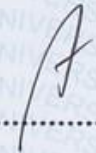
2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung


Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

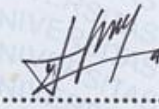
1. Tim Penguji

Ketua : Dra. Aspita Laila, M.Si.




.....

Sekretaris : Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.



.....

Anggota : Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si, M.Sc.



.....



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Satripto Dwi Yuwono, S. Si, M. T.
NIP. 197407052000031001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 9 Februari 2022

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ani Nurhayati

Npm : 1517011054

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 dari bakteri indigen isolat BSPP-1c asal sedimen perairan pelabuhan Panjang 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 mestinya.



Bandar Lampung, 18 April 2022

Yang Menyatakan

Ani Nurhayati

NPM. 1517011054

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Ani Nurhayati dilahirkan di Sumber Agung pada 1 Februari 1997 sebagai anak pertama dari dua bersaudara, putri dari bapak Zaenal Arifin dan ibu Mujiningsih. Penulis saat ini bertempat tinggal di Desa Merak Belantung, Kecamatan Kalianda, Lampung Selatan. Jenjang pendidikan dimulai dari Taman Kanak-Kanak di TK Bina Karya diselesaikan pada tahun 2003. Sekolah dasar di SDN 2 Merak Belantung diselesaikan pada tahun 2009.

Sekolah Menengah Pertama di SMPN 2 Kalianda diselesaikan pada tahun 2012. Sekolah Menengah Atas di MAN Kalianda diselesaikan pada tahun 2015. Tahun 2015 penulis terdaftar sebagai mahasiswa di jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur masuk SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama menempuh pendidikan di kampus 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 bidang Sains dan Penalaran Ilmu Kimia (SPIK) Himaki FMIPA Unila tahun 2016/2017, anggota bidang kominfo BEM FMIPA Unila tahun 2016/2017, anggota kominfo UKM Penelitian Unila tahun 2016/2017 dan 2017/2018.

Penulis telah melakukan Praktik Kerja lapangan (PKL) pada tahun 2018 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Unila. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 32 hari di Desa Toto Projo, Kecamatan Way Bungur, Lampung Timur pada bulan Juli-Agustus tahun 2018. Penulis pernah menjadi asisten Biokimia II di jurusan Biologi FMIPA Unila pada tahun

2019/2020, asisten Biokimia I pada jurusan Biologi Terapan FMIPA Unila tahun 2020/2021 dan kembali menjadi asisten Biokimia di jurusan biologi terapan FMIPA Unila pada tahun 2021/2022. Penulis melakukan penelitian di Laboratorium Biokimia jurusan Kimia FMIPA Unila pada bulan September 2021 dengan judul “**Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang**”. Pada bulan Februari 2022 Penulis dinyatakan lulus sebagai sarjana Sains.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji hanya milik Allah subhanahu wa Ta'ala yang telah melimpahkan nikmat dan karunianya sehingga atas ridho-Nya karya ilmiah ini dapat terselesaikan. Kupersembahkan karya sederhanaku ini sebagai wujud bukti dan tanggungjawab kepada :

Kedua orangtuaku tercinta

Bapak Zaenal Arifin dan mamakku Mujiningsih

Yang selalu memberikan dukungan dengan penuh kesabaran, kasih sayang yang tak pernah henti serta do'a terbaik yang selalu diberikan sepanjang waktu yang tidak akan pernah bisa terbalaskan oleh penulis dengan apapun dan sampai kapanpun

Adikku

Abdul majid yang senantiasa selalu memberikan dukungan serta membantu penulis dan do'a do'a terbaiknya

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

Rasa Hormatku kepada

Bunda Dra. Aspita Laila, M.Si.

Terimakasih atas ilmu, nasihat, kritikan dan saran serta dukungannya kepada penulis karena telah sabar dalam membimbing dan membantu penulis menyelesaikan skripsi.

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

Almamater tercinta

Universitas Lampung

MOTTO

Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan
(QS. Al-Insyirah)

مَنْ جَدَّ وَجَدَ

Barang siapa yang bersungguh-sungguh, pasti ia dapat

خَيْرُ جَلِيسٍ فِي الزَّمَانِ كِتَابٌ

Sebaik-baik teman duduk pada setiap waktu adalah buku.

Jika kamu tidak sanggup menahan lelahnya belajar maka kamu harus sanggup
menahan perihnya kebodohan
(Imam Syafii)

SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada program studi Kimia FMIPA Universitas Lampung. Sholawat teriring salam semoga kita mendapatkan syafa’at Nya di yaumul akhir kelak, Aamiin.

Dalam pelaksanaan dan penulisan skripsi ini tidak lepas dari kesulitan namun semua itu dapat dilalui berkat dukungan, bantuan, motivasi dan do’a dari berbagai pihak. Pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih banyak kepada:

1. Allah SWT karena telah memberikan banyak pembelajaran yang bisa menjadikan penulis pribadi yang jauh lebih baik lagi.
2. Kedua orangtua tercinta bapak Zaenal Arifin dan mamak Mujiningsih, terimakasih mak pak karena sudah selalu ada untuk penulis, selalu memberikan dukungan penuh baik dari moril maupun materil. Selalu sigap dan tanggap, memberikan yang terbaik untuk penulis, mewujudkan apa yang penulis inginkan, memberikan semangat, dan selalu memberikan doa terbaiknya untuk penulis. Terimakasih mak pak sudah mau mendengarkan keluh kesah penulis selama penelitian sampai penulis menyelesaikan skripsi.
3. Adik tercinta Abdul Majid terimakasih karena sudah selalu memberikan dukungan dan selalu mendoakan penulis.
4. Diri sendiri, terimakasih karena sudah mau berjuang sejauh ini, bekerjasama untuk kembali menyelesaikan tanggungjawab ini.

5. Bunda Dra. Aspita Laila, M.Si selaku pembimbing 1, terimakasih banyak atas ilmunya, sudah mau direpotkan dan meluangkan waktunya, terimakasih untuk kesabarannya dalam membimbing penulis yang seringkali hilang tanpa kabar, selalu ada untuk penulis dan membantu penulis ketika penulis mengalami kesulitan dalam penelitian. Terimakasih untuk dukungan dan semangat, nasihat, kritik dan saran serta sudah mengantarkan penulis sampai ditahap ini, menyelesaikan skripsi ini.
6. Ibu Dr. Nurhasanah, M. Si selaku pembimbing 2, terimakasih bu atas ilmunya, motivasi, kritik dan saran serta bimbingannya selama ini sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan hasil yang terbaik.
7. Bapak Prof. Dr. Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc selaku pembahas, terimakasih pak karena sudah meluangkan waktunya untuk membimbing penulis, memberi arahan, serta saran kepada penulis.
8. Bapak Prof. Suharso, S.Si.,Ph.D selaku pembimbing akademik yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
9. Bapak Dr. Eng. Suropto dwi yuwono, M.T selaku Dekan FMIPA Unila
10. Bapak Dr. Mulyono, M.Si dan ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si selaku ketua jurusan dan sekretaris jurusan Kimia FMIPA Unila.
11. Bapak dan ibu dosen Kimia FMIPA Unila. Terimakasih atas ilmu, pengalaman, motivasi dan saran yang telah diberikan kepada penulis.
12. Segenap staff dan karyawan jurusan Kimia FMIPA Unila. Terimakasih atas bantuan yang diberikan kepada penulis.
13. Nuripia, Heni Fitriyani, Nurjannah terimakasih karena selalu berbagi canda tawa, suka duka, selalu mendengarkan keluh kesah penulis. Terimakasih kalian selalu ada dipihak penulis, selalu memotivasi dan mendukung tanpa alasan apapun.
14. Elsina ‘Azmi, S.Si. terimakasih ya neng untuk 2 tahun waktu bersamanya, terimakasih sudah menjadi *partner* belajar ketika ujian, walaupun kamu lulus duluan, tapi kamu masih selalu ada untuk penulis, selalu ada dipihak penulis, selalu mendukung, terimakasih sudah menjadi teman cerita dan pendengar yang baik. Semoga hubungan baik ini akan selalu terjaga ya

seperti apa yang pernah mamah sampaikan, sampai anak-anak kita yang melanjutkannya aamiin.

15. Wiwin Indrianti, terimakasih ya sudah menjadi partner lab, partner diskusi, terimakasih untuk kebersamaannya kurang lebih 2 tahun bersama-sama ke lab tanpa kenal waktu berangkat pagi sampai pulang pagi lagi dan terkadang harus tidur di lab dikarenakan kondisi yang tidak memungkinkan. Terimakasih sudah mau menjadi pendengar dan penasihat yang baik bagi penulis yang selalu mendengarkan cerita penulis, sudah mau berbagi suka maupun duka. Terimakasih sudah menjadi partner dalam penelitian ini, saling bertukar ide dan memberikan masukan ketika penulis mengalami kesulitan dalam menulis skripsi ini. Terimakasih karena selalu kebersamaai penulis sampai wisuda dan terimakasih karena tidak meninggalkan penulis dalam keadaan apapun. Terimakasih karena selalu memberikan semangat kepada penulis ketika penulis benar-benar putus asa. Terimakasih terakhir untuk segalanya yang tidak bisa diungkapkan semuanya disini.
16. Upi dan Citra terimakasih karena selalu memberikan dukungan, semangat, serta motivasi yang tak pernah usai, selalu mendengarkan keluh kesah penulis, menjadi teman diskusi yang baik selama penulis melakukan percobaan penelitian.
17. “Nurhasanah’s Research Group” Wiwin Indrianti, Silvana Citra, Meitri Ayu Ningrum, Vicky Dila Cahyani, Siwi Meutia Sadewi, Intan Samrotul Fu’adah, Widya Kusuma, Putri Kuswendari, Yoanda Widiadita, Melly Yusnidar, Aiga Sheira Sirait, Qanita Nurul Husna dan Ria Mela Rosi.
18. Teman-teman, kakak-kakak serta adik-adik seperjuangan di Laboratorium Biokimia Unila Wiwin, yumai, citra, Nurmalia, Hani, Mujahid, mba Dwi May, mba Yurika, mba Bidari, kak Angga, kak Asrul, kak Agung(Alm), Qanita, Ria, Mely, Grace, Putri, Remizar, Cucu, dan Hendri. Terimakasih atas segala bantuannya kepada penulis selama penelitian di Laboratorium Biokimia.

19. Teman-teman seperjuangan Chem15try 2015 terkhusus kelas B, terimakasih atas waktu yang telah dilewati bersama penulis baik suka maupun duka.
20. Teman-teman kosan K-Praban Santi, Sefti, Hasna, Reza, mba Nabil, mba Nanda, Niken Virnanda, Santi, bunda Diah, ayah Huri, dede Nana, Dimas, kak Dara, kak Nova, Eza, kak wirda, kak tini, kak Ria, terimakasih telah berbagi canda tawa dan cerita kepada penulis.
21. Dian Putri Sani, S.Si, terimakasih untuk 4 tahun bersamanya dari aku yang tidak punya siapa-siapa dikota ini, sampai aku memiliki banyak teman, terimakasih sudah menjadi teman tidurku, teman berbagi suka maupun duka, trimakasih atas kesabarannya dalam menghadapi sifatku.
22. Mami Azagam “Purwati, A.Md” dan papi Azagam “Mahes”. Terimakasih sudah menjadi teman healing, teman makan, teman jalan-jalan. Terimakasih atas motivasi, sarannya dan selalu menghibur ketika penulis kecewa gagal melakukan percobaan penelitian, selalu mendukung penulis untuk tidak pantang menyerah dan mencoba lagi sampai berhasil melakukan percobaan. Terimakasih mami karena sudah menjadi teman berbagi keluh kesah, memberikan saran-saran yang sangat membantu, mendengarkan segala cerita hidupku, menjadi saksi perjuanganku menyelesaikan tanggungjawabku. Buat Azam dan Agam terimakasih karena sudah menghibur penulis.
23. Teman-teman semua yang sempat hadir membantu penulis yang tidak bisa disebutkan satu persatu, dan kakak yang sudah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi, terimakasih.
24. Teman-teman SD N 2 Merak Belantung, SMP N 2 kalianda, MAN 1 Lamsel, mba Dina terimakasih atas motivasinya.
25. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang secara tulus dan ikhlas telah memberikannya kepada penulis.

Atas segala kebaikan yang telah diberikan kepada penulis. 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, 18 April 2022

Ani Nurhayati

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xx
DAFTAR GAMBAR	xxi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Biosurfaktan	5
2.2 Mikroba Penghasil Biosurfaktan	7
2.3 Karakterisasi Biosurfaktan	9
2.3.1 Hemolisis	9
2.3.2 Indeks emulsifikasi	9
2.3.3 Uji <i>drop collapse</i>	10
2.3.4 Uji <i>oil spread</i>	10
2.4 Produksi Biosurfaktan	10
2.5 Faktor yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan	11
2.5.1 Sumber substrat	11
2.5.2 Kondisi lingkungan	13
2.5.3 Waktu pertumbuhan kultur	14
2.6 Kurva Pertumbuhan	14
2.7 Karakterisasi Morfologi dan Biokimia Bakteri	16
III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Waktu dan Tempat	19

3.2	Alat dan Bahan	19
3.3	Metode Penelitian	19
3.3.1	Sterilisasi alat	19
3.3.2	Pembuatan media	20
	a. Media <i>nutrient</i> agar	20
	b. Media <i>nutrient</i> broth	20
	c. Media agar darah	20
	d. Mineral salt medium (MSM)	21
3.3.3	Peremajaan bakteri	21
3.3.4	Karakterisasi biokimia.....	21
	a. Pewarnaan bakteri	21
	b. Uji katalase	22
3.3.5	Uji biosurfaktan	23
	a. Hemolisis	23
	b. Indeks emulsifikasi	23
	c. <i>Drop collapse</i>	23
	d. <i>Oil spread</i>	24
3.3.6	Kurva pertumbuhan	24
3.3.7	Optimasi produksi biosurfaktan	25
	a. Optimasi konsentrasi inokulum	25
	b. Optimasi sumber karbon	25
	c. Optimasi sumber nitrogen	25
3.3.8	Diagram alir penelitian	27
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1	Isolat Bakteri Indigen BSPP-1c Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang	28
4.2	Aktivitas Hemolisis Bakteri Indigen BSPP-1c Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang	29
4.3	Karakteristik Biokimia Isolat Bakteri BSPP-1c.....	30
4.4	Pola Pertumbuhan Bakteri Isolat BSPP-1c.....	31
4.5	Kondisi Optimum Produksi Biosurfaktan	33
	4.5.1 Konsentrasi inokulum.....	33
	4.5.2 Sumber karbon.....	35
	4.5.3 Sumber nitrogen	36
V.	SIMPULAN DAN SARAN	39
5.1	Simpulan	39
5.2	Saran	39

DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	47

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Mikroba Penghasil Biosurfaktan	7
2. Hasil Karakterisasi Isolat BSPP-1c	30
3. Hasil Uji Biosurfaktan pada Optimasi Konsentrasi Inokulum	34
4. Hasil Uji Biosurfaktan pada Optimasi Sumber Karbon.....	36
5. Hasil Uji Biosurfaktan pada Optimasi Sumber Nitrogen.....	38
6. Data Absorbansi Kurva Pertumbuhan Isolat BSPP-1c	48
7. Data Uji Indeks Emulsifikasi	49
8. Optimasi Konsentrasi Inokulum dalam Produksi Biosurfaktan dengan Media MSM	50
9. Optimasi Sumber Karbon dalam Produksi Biosurfaktan dengan Media MSM	51
10. Optimasi Sumber Nitrogen dalam Produksi Biosurfaktan dengan Media MSM	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kurva Pertumbuhan Bakteri	15
2. Bentuk, Elevasi dan Tepi Koloni Bakteri	17
3. Bagan Alir Penelitian	27
4. Hasil Peremajaan Isolat BSPP-1c	28
5. Hasil Uji Hemolisis (a) Isolat BSPP-1c, (b) Kontrol Media.....	29
6. Kurva Pertumbuhan Isolat BSPP-1c	31
7. Konsentrasi Inokulum Optimum Isolat BSPP-1c	33
8. Sumber Karbon Optimum Isolat BSPP-1c	35
9. Sumber Nitrogen Optimum Isolat BSPP-1c	37

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Biosurfaktan merupakan senyawa produk metabolit yang dapat disintesis secara ekstraselular oleh mikroba dan sumber lain seperti jamur dan kapang serta dapat menurunkan tegangan permukaan pada ruang antara air dan minyak karena memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik (Elazzazy *et al.*, 2015). Menurut El-Sheshtawy *and* Doheim (2014) biosurfaktan yang dihasilkan dari mikroba mempunyai beberapa keuntungan diantaranya mudah terurai, mempunyai sifat fisika dan kimia yang stabil, serta dapat stabil pada temperatur tinggi.

Biosurfaktan dapat dihasilkan oleh bakteri yang berasal dari habitat aslinya atau yang disebut sebagai bakteri indigen. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengisolasi bakteri indigen penghasil biosurfaktan dari berbagai lingkungan seperti lingkungan yang terkontaminasi minyak (Jaysree *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2011), limbah pabrik minyak (Gujar *and* Hamde 2011), sumur aspal di La Brea, Los Angeles (Belcher *et al.*, 2012), dan tanah di sekitar bengkel mobil (Shoeb *et al.*, 2012). Isolat-isolat yang didapat dari hasil isolasi sampel tersebut kemudian digunakan untuk produksi biosurfaktan.

Produksi biosurfaktan dapat ditingkatkan dengan melakukan optimasi kondisi ekologi, fisiologi, dan nutrisi (Saikia *et al.*, 2011). Faktor – faktor lainnya yang mempengaruhi produksi biosurfaktan antara lain substrat pertumbuhan seperti sumber karbon dan nitrogen, 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 konsentrasi sumber karbon, nitrogen, konsentrasi NaCl, dan aerasi juga memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Nugroho, 2006).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh mikroba yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan dengan sumber karbon dan sumber nitrogen berbeda, diantaranya sumber karbon glukosa dapat digunakan oleh *Arhrobacter paraffineus* untuk menghasilkan biosurfaktan. Ilori *et al.*, (2005) menjelaskan dalam penelitiannya bahwa sumber karbon glukosa bisa digunakan untuk menghasilkan biosurfaktan oleh isolat *Aeromonas* spp. Peneliti lainnya Yulistia dkk., (2015) menggunakan beberapa isolat diantaranya *Aeromonas* yang mampu tumbuh dalam media pertumbuhan dengan sumber karbon pati, manitol, asam asetat dan sukrosa. Isolat lainnya yang juga digunakan dan memiliki kemampuan tumbuh pada media dengan sumber karbon sukrosa yaitu *Branhamella* sp dan *Niesseria* sp. Hasil yang optimal diperoleh menggunakan hidrokarbon atau karbohidrat dan lipid. Produksi biosurfaktan sebagian besar menggunakan karbohidrat dalam bentuk gula murni seperti glukosa, fruktosa dan sukrosa.

Penelitian terhadap sumber nitrogen yang berbeda juga dilakukan diantaranya Rashedi *et al.*, (2005) melaporkan bahwa nitrat lebih efektif untuk memproduksi rhamnolipid dari *P.aeruginosa*. Sementara itu Andriana *et al.*, (2009) memberikan hasil terbaik dengan sumber nitrogen KNO₃ dan (NH₄)₂SO₄ dalam mendegradasi *crude oil* untuk isolat E7a dan E7d. Penelitian lainnya juga menunjukkan produksi biosurfaktan dari *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18 meningkat secara signifikan dengan urea sebagai sumber nitrogen (Yuliana, 2019).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Widjajanti dkk (2008) diketahui jenis mikroba yang dapat menghasilkan biosurfaktan yaitu *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter* dan *Flavobacterium*. Jenis biosurfaktan yang dihasilkan akan berbeda tergantung dari jenis

mikrobanya dan substrat pertumbuhannya. Begitupun pada jenis mikroba yang sama, biosurfaktan yang dihasilkan dapat berbeda jika substrat pertumbuhan yang digunakannya berbeda. Substrat merupakan salah satu faktor penting yang dapat menunjang pertumbuhan mikroba penghasil biosurfaktan dimana dalam suatu substrat, nutrisi yang memegang peranan penting dalam pertumbuhan mikroba adalah sumber karbon dan nitrogen dapat menyebabkan perbedaan signifikan terhadap konsentrasi akhir biosurfaktan.

Studi terhadap mikroba – mikroba dari air laut pelabuhan Panjang dalam kemampuannya sebagai penghasil biosurfaktan dilaporkan oleh Citra (2021) dalam penelitiannya menggunakan isolat ALP D1 dan ALP E1 menggunakan sumber karbon minyak bumi masing – masing memberikan nilai indeks emulsi sebesar 60,61% dan 51,52%. Peneliti lainnya juga melaporkan bahwa isolat ALP E1 mampu memproduksi biosurfaktan pada keadaan optimum menggunakan sumber karbon minyak zaitun 10% dan sumber nitrogen urea 0,26% pada pH 7 dan salinitas 0,5% dengan nilai indeks emulsi 78,5% (yusnidar, 2021). Salah satu isolat yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan adalah isolat BSPP-1c dengan nilai indeks emulsi 44,12%, nilai %IE₂₄ ini masih rendah dibandingkan nilai IE beberapa isolat yang diketahui mampu menghasilkan biosurfaktan.

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan optimasi produksi biosurfaktan dari bakteri indigen isolat BSPP-1c asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang. Adapun parameter produksi yang dilakukan meliputi konsentrasi inokulum, sumber karbon dan sumber nitrogen.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian yang akan dilakukan adalah :

1. Mendapatkan kondisi optimum isolat BSPP-1c (konsentrasi inokulum, sumber karbon dan sumber nitrogen) dalam memproduksi biosurfaktan.

2. Mengetahui karakteristik biokimia isolat BSPP-1c sebagai bakteri penghasil biosurfaktan.

1.3 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

1. Kondisi optimum yang diperoleh dapat digunakan pada tahap lanjut dalam memproduksi biosurfaktan dari isolat BSPP-1c asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang.
2. Memberikan informasi tentang bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang yang memiliki potensi menghasilkan biosurfaktan.
3. Biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri indigen isolat BSPP-1c dapat dipelajari kemampuannya dalam menghasilkan biosurfaktan yang berbeda dan diaplikasikan dalam berbagai bidang yang sesuai.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Biosurfaktan

Biosurfaktan merupakan molekul aktif permukaan dalam bentuk senyawa amphipatik yang terdiri dari bagian hidrofilik dan hidrofobik yang dihasilkan oleh banyak galur mikroba ketika tumbuh dalam media yang mengandung substrat tak larut air. Bagian hidrofilik ini bersifat polar dapat berupa karbohidrat, asam amino, atau kelompok fosfat sedangkan bagian hidrofobiknya bersifat non polar yang umumnya berupa karbon rantai panjang atau rantai hidrokarbon dari asam lemak. Adanya gugus hidrofilik dan hidrofobik menyebabkan molekul ini dapat menurunkan tegangan permukaan suatu cairan, tegangan antarmuka dua cairan, atau antara cairan dan padatan. Biosurfaktan memiliki sifat kimia dan ukuran molekul yang bervariasi. Molekul ini dapat berada pada permukaan sel mikroba ataupun disekresikan dalam media (Singh 2012).

Beberapa mikroorganisme menghasilkan biosurfaktan hanya ketika ditumbuhkan pada hidrokarbon, sementara yang lainnya membutuhkan substrat yang larut dalam air seperti karbohidrat dan asam amino untuk membentuk suatu biosurfaktan. Lemak dan asam lemak juga digunakan sebagai substrat untuk menghasilkan suatu biosurfaktan. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi jumlah produksi biosurfaktan antara lain sumber karbon alami, sumber nitrogen, serta parameter fisika dan kimia seperti suhu dan pH. Biosurfaktan dapat diproduksi dari berbagai substrat yang berbeda – beda. Struktur biosurfaktan khususnya ekor hidrofobik, mungkin dapat mencerminkan substrat, pergantian substrat sering merubah struktur dan tentu saja sifat dari produk.

Berdasarkan komponen kimianya biosurfaktan dapat diklasifikasikan ke dalam 5 tipe yaitu glikolipid, lipopeptida dan lipoprotein (lipid biosurfaktan yang mengandung asam amino), fosfolipid dan asam lemak, surfaktan polimerik dan surfaktan partikulat (Desai and Banat, 1997). Glikolipid adalah karbohidrat dengan rantai alifatik panjang atau asam hidroksialifatik. Glikolipid banyak diketahui antara lain rhamnolipid, trehalolipid dan shoporolipid.

- a. Rhamnolipid merupakan satu atau dua molekul rhamnose dihubungkan pada satu atau dua molekul asam β -hidroksidekanoik.
- b. Trehalolipid kebanyakan diperoleh dari genus *Mycobacterium* disebabkan ester trehalolipid berada pada permukaan sel. Trehalolipid mengandung disakarida trehalose yang dihubungkan pada C-6 dan C6' pada asam mikolik. Asam mikolik merupakan rantai panjang asam lemak α - β -hidroksi.
- c. Shoporolipid terdiri dari sebuah gula sophorose dan sebuah asam lemak hidroksil yang dihubungkan dengan sebuah ikatan β -glikosidik (Rahman and Gakpe, 2008).

Lipopeptida merupakan juga surfaktan dengan 7 asam amino yang diikat pada sebuah gugus karboksil dan hidroksil pada 14 asam karbon. Biosurfaktan asam lemak terdiri dari gugus OH dan cabang alkil. Biosurfaktan polimerik terdiri dari emulsan, liposan, mannoprotein dan kompleks polisakarida-protein. Emulsan yaitu bioemulsifier polianionik amphipatik heteropolisakarida. Liposan merupakan emulsifier ekstraseluler yang larut dalam air. Liposan terdiri dari 83% karbohidrat dan 17% protein dengan bagian karbohidrat merupakan heteropolisakarida yang terdiri dari glukosa, galaktosa, galaktosamin dan galaktoramik. Jenis polimerik lainnya yaitu biodispersan, bioemulsifier makanan dan insektisida emulsifier. Biosurfaktan polimerik disusun dari protein, phospholipid dan lipopolisakarida (Rahman and Gakpe, 2008).

Berdasarkan berat molekulnya biosurfaktan dikelompokkan menjadi 2 kelompok menurut Ron dan Rosenberg (2001) :

1. Biosurfaktan dengan berat molekul rendah

Yang termasuk kedalam jenis ini adalah glikolipid seperti sakarolipid, trehalosalipid, fosfolipid dan asam lemak yang semuanya memiliki bagian hidrofilik dan hidrofobik yang berfungsi dalam menurunkan tegangan permukaan.

2. Biosurfaktan dengan berat molekul tinggi

Yang termasuk kedalam jenis ini adalah lipoprotein, lipopolisakarida dan polisakarida amphipatik, polimerik dan partikulat. Biosurfaktan jenis ini tidak memiliki bagian hidrofilik dan hidrofobik serta lebih efektif dalam stabilisasi minyak dalam emulsi air.

2.2 Mikroba Penghasil Biosurfaktan

Kebanyakan biosurfaktan dihasilkan oleh bakteri namun ada juga beberapa fungi yang mampu menghasilkan biosurfaktan. Jenis biosurfaktan yang dihasilkan oleh setiap mikroba berbeda-beda. Jenis-jenis mikroba lain penghasil biosurfaktan dan tipe biosurfaktan yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jenis mikroba dan biosurfaktan yang dihasilkan

(Muthusamy et al., 2008).

Jenis Biosurfaktan	Jenis Mikroba
Glikolipida	
Trehalosa mykolat	<i>Arthrobacter paraffineus</i> ; <i>Mycobacterium phlei</i> ; <i>Rhodococcus crythropolis</i>
Trehalosa ester	<i>Mycobacterium fortitum</i> ; <i>Micromonospora sp.</i> ; <i>Mycobacterium smegmati</i> ; <i>Mycobacterium paraffinicu</i>
Mono-, Di-, Trisakarida mykolat	<i>Arthrobacter sp.</i> ; <i>Corynebacterium diphtheria</i> ; <i>Mycobacterium smegmatis</i> <i>Mycobacterium fortitum</i> ; <i>Micromonospora sp.</i> ; <i>Mycobacterium smegmati</i> ; <i>Mycobacterium paraffinicu</i>
Rhamnolipida	<i>Pseudomonas sp.</i> ; <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Sophorolipida	<i>Candida spp.</i> ; <i>Torulopsis petrophilum</i> ; <i>Torulopsis apicola</i> ; <i>Torulopsis bombicola</i>

	<i>Pseudomonas sp.; Pseudomonas aeruginosa</i>
Fosfolipida dan Asam Lemak	
Fosfolipida dan asam lemak	<i>Candida spp.; Corynebacterium spp.; Micrococcus spp.</i>
Fosfolipida	<i>Acinetobacter spp.; Aspergillus spp.; Thiobacillus thiooxidans</i> <i>Candida spp.; Corynebacterium spp.; Micrococcus spp.</i>
Lipopeptida dan Lipoprotein	
Gramiciden	<i>Bacillus brevis</i>
Polymyxin	<i>Bacillus polymyxa</i>
Ornithin-lipida	<i>Pseudomonas rubescens</i>
Ceripilin	<i>Gluconobacter cerinus</i>
Lysin-lipida	<i>Agrobacterium tumefaciens; Streptomyces sioyaensis</i>
Surfaktin-subtilysin	<i>Bacillus subtilis</i>
Peptida lipida	<i>Bacillus licheniformis</i>
Viscosin	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Serrawettin	<i>Serratia marcescens</i>
Surfaktan Polimer	
Lipo hetero polisakarida	<i>Arthrobacter calcoaceticus</i> RAG-1
Hetero polisakarida	<i>Arthrobacter calcoaceticus</i> A2
Polisakarida protein	<i>Arthrobacter calcoaceticus</i> strains; <i>Candida lipolytica</i>
Manno-protein	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>
Karbohidrat protein	<i>Candida petrophilium; Endomycopsis lipolytica</i>
Mannan- komplek lipida	<i>Candida tropicalis</i>
Mannosa/erythrosa-lipida	<i>Shizonella melanogramma; Ustilago maydis</i>
Kompleks karbohidrat-protein-lipida	<i>Debaryomyces polymorphus; Pseudomonas spp.; Pseudomonas fluorescens</i>
Biosurfaktan Partikular	
Membran vesikula	<i>Acinetobacter sp.</i> H01-N
Fimbriae	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
Seluruh bagian sel	Berbagai jenis mikroba

2.3 Karakterisasi Biosurfaktan

Karakterisasi biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan. Beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mengkarakterisasi biosurfaktan adalah :

2.3.1 Hemolisis

Hemolisis merupakan metode kualitatif menggunakan sel darah merah sebagai media tumbuh kaya nutrisi bagi mikroba spesifik yang paling mudah dan paling cepat sebagai penduga awal terhadap bakteri penghasil biosurfaktan. Batista *et al.*, (2006) menyatakan bahwa metode cawan agar darah merupakan metode penapisan awal sehingga perlu didukung pengujian lanjutan seperti pengukuran kemampuan emulsi dan aktivitas tegangan permukaan. 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 agar darah (Das *et al.*, 2008). Media *blood agar* digunakan untuk skrining bakteri yang memiliki sifat mampu menghemolisis darah merah. Bakteri yang mampu menghemolisis sel darah merah ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekitar koloni. Zona bening yang terbentuk diukur (Jennings and Tanner, 2000).

2.3.2 Indeks Emulsifikasi

Indeks emulsifikasi (%IE₂₄) adalah aktivitas emulsi pada hidrokarbon uji dan ditetapkan sebagai persentase tinggi lapisan emulsi (mm) dibagi total tinggi dari cairan kolom (Kumar *et al.*, 2008). Karakteristik utama biosurfaktan antara lain mempunyai sifat tensioaktif, menghasilkan buih atau busa, dan membuat emulsi minyak dalam air atau air dalam minyak yang berperan seperti surfaktan sintesis. 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 (Suryani *et al.*, 2000).

2.3.3. Uji *Drop Collaps*

Uji *drop collaps* dilakukan dengan meneteskan 1 tetes supernatan yang merupakan biosurfaktan kultur bakteri diatas minimum media minyak pada wadah datar biasanya digunakan cawan petri. Pengukuran dilakukan dengan menghitung waktu yang dibutuhkan oleh supernatan (biosurfaktan) untuk memecah minyak pada satuan detik.

Hasil pengujian dilaporkan sebagai hasil rata-rata dari dua ulangan (Fatimah, 2007).

2.3.4 *Oil Spreading Test*

Uji karakterisasi bakteri penghasil biosurfaktan lainnya dapat dilakukan dengan metode *oil spreading* untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dari bakteri yang diuji dengan mengamati kemampuan bakteri dalam menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air. Uji dilakukan dengan cara cawan petri diisi akuades sebanyak 20 mL lalu ditambahkan hidrokarbon di atasnya hingga terbentuk lapisan tipis pada permukaan akuades. Lalu tambahkan 1 tetes supernatan di atas permukaan minyak. Hasil positif ditandai dengan memisahkannya minyak dengan membentuk zona bening. Larutan akuades digunakan sebagai kontrol negatif (Gozan *et al.*, 2014).

2.4 Produksi Biosurfaktan

Pola laju produksi biosurfaktan oleh mikroorganisme antara lain :

- a. Produk biosurfaktan diproduksi seiring dengan pertumbuhan mikroba dan kuantitas produk biosurfaktan yang dihasilkan berbanding lurus dengan penambahan biomassa mikroorganisme.

- b. Produk biosurfaktan diproduksi ketika fase pertumbuhan mencapai eksponensial (logaritma) dan produksinya mencapai maksimum saat fase pertumbuhan mikroorganisme mendekati stasioner.
- c. Produk biosurfaktan dihasilkan pada saat pertumbuhan mikroorganisme mencapai fase eksponensial akhir dan akan meningkat terus meskipun fase pertumbuhan mikroorganisme mendekati fase kematian.
- d. Produk biosurfaktan yang dihasilkan tidak mengiringi pola pertumbuhan dan tidak bisa diikuti polanya.

Pemahaman tentang korelasi antara daya produksi biosurfaktan dan waktu inkubasi sangat penting untuk mengungkap beberapa hal terkait dengan biosurfaktan diantaranya pengelompokan biosurfaktan sebagai metabolit primer atau sekunder. Upaya pengembangan produksi biosurfaktan dalam dunia industri, efisiensi waktu inkubasi pada setiap variabel produksi lainnya sangat dibutuhkan, mengingat semakin cepat laju produksi semakin banyak hasilnya.

2.5 Faktor yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan

Sebagian besar produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh jenis substrat (sumber karbon dan nitrogen), kondisi lingkungan (waktu, salinitas, pH, suhu, agitasi dan tingkat pengenceran) dan umur kultur (Sahara *et al.*, 2011). Berikut ini beberapa faktor yang mempengaruhi produksi biosurfaktan :

2.5.1 Sumber substrat

a. Sumber Karbon

Media kultur harus mengandung semua elemen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba (Hidayat *et al.*, 2006). Pemilihan sumber karbon mempunyai peran penting terhadap hasil dan struktur biosurfaktan yang dihasilkan. Sumber karbon yang biasa digunakan untuk menghasilkan biosurfaktan adalah karbohidrat, hidrokarbon dan minyak nabati. Beberapa organisme mampu memproduksi biosurfaktan hanya dengan menggunakan karbohidrat, hidrokarbon

dan yang lain lagi mengkonsumsi beberapa substrat, dikombinasi atau secara terpisah.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zajic *et al.*, (1977) diketahui bahwa bakteri hidrokarbonolitik mampu menggunakan 4 macam sumber karbon yaitu glukosa, parafin cair, heksadekana, dan minyak mentah (*crude oil*) untuk menghasilkan biosurfaktan dengan parameter tegangan permukaan yang menurun. Penurunan tegangan permukaan cenderung meningkat secara teratur sesuai dengan peningkatan konsentrasi yang digunakan dalam media kultur dimana semakin tinggi konsentrasi maka akan semakin besar penurunan tegangan permukaan yang dihasilkan (Nugroho, 2006).

Sumber karbon terlarut, seperti manitol, gliserol dan etanol dapat digunakan untuk produksi rhamnolipid oleh *Pseudomonas* sp. (Desai and Banat, 1997).

Penelitian Abouseoud *et al.*, (2007) juga memproduksi biosurfaktan jenis rhamnolipid oleh genus *Pseudomonas* dengan sumber karbon gliserol, manitol, fruktosa, glukosa, n-parafin dan minyak nabati. Menurut Suryatmana *et al.*, (2006) substrat seperti glukosa akan digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon dan energi untuk proses metabolisme seperti sintesis biomassa, sintesis produk ekstraseluler, energi untuk pertumbuhan, dan energi untuk pemeliharaan. Produksi biosurfaktan termasuk pada kategori proses sintesis produk ekstraseluler. 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). Limbah industri yang mengandung bahan organik dapat dimanfaatkan sebagai substrat untuk produksi biosurfaktan. Salah satu jenis sumber karbon dari limbah yang dapat digunakan adalah molase dan minyak kedelai. Penelitian yang telah dilakukan oleh Priyani dkk (2011) diketahui bahwa bakteri

P.aeruginosa yang menggunakan 3 macam sumber karbon yaitu molase, minyak kedelai dan glukosa memberikan hasil terbaik pada media dengan sumber karbon minyak kedelai (media SK).

b. Sumber Nitrogen

Nitrogen berperan penting dalam regulasi sintesis biosurfaktan. Keterbatasan jumlah nitrogen dalam media dapat mengubah komposisi biosurfaktan yang dihasilkan (Ruzniza, 2005). Sumber nitrogen yang biasa digunakan dalam produksi biosurfaktan adalah ammonium nitrat (NH_4NO_3), urea, KNO_3 , NH_4Cl , NaNO_3 (Yataghene *et al.*, 2008).

Beberapa penelitian terkait penggunaan sumber nitrogen di atas di antaranya telah dilakukan oleh Budiarti (2000) yang melaporkan bahwa penggunaan urea sebagai sumber nitrogen pada media oleh bakteri B4 juga memberikan hasil lebih baik dibandingkan dengan *yeast extract*. Penelitian yang dilakukan oleh Makkar *and* Cameotra (2002) melaporkan bahwa sodium nitrat, potassium nitrat, dan urea merupakan sumber nitrogen yang paling baik untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis* dibandingkan dengan sumber nitrogen lain yang dicobakan (*peptone*, *yeast ekstrak*, *beef ekstrak*, *tripton*, ammonium nitrat, dan sodium sulfat). Pertumbuhan *Lysinibacillus spaerichus* lebih tinggi ketika ditumbuhkan dalam medium dengan ammonium nitrat dibandingkan dengan urea sebagai sumber nitrogen, namun produksi biosurfaktan pada medium dengan ammonium nitrat lebih rendah dibandingkan dengan urea (Sandri, 2009).

2.5.2 Kondisi Lingkungan

Kesesuaian kondisi lingkungan pertumbuhan bakteri akan mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan kemampuan bakteri dalam memproduksi biosurfaktan. Faktor lingkungan seperti suhu, pH maupun salinitas dapat mempengaruhi produksi biosurfaktan. Faktor lainnya seperti panas, adanya air, dan cahaya juga dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme (Sahara, 2011).

Kenaikan dan penurunan temperatur kemungkinan berperan dalam mengubah metabolisme mikroba. Pada kultur *batch* isolat AB-Cr1 dan ETL-Cr1 dengan variasi suhu 30°C sampai 55°C, diperoleh temperatur yang optimum pada suhu 37°C untuk produksi biosurfaktan terbanyak (Ruzniza, 2005). Menurut Nurlaila (2016) pada penelitiannya menggunakan bakteri *P.aeruginosa* dalam menentukan kondisi optimasi pH yang menggunakan pH 4 – 9 biosurfaktan yang optimum dihasilkan pada pH 7. Pembentukan biosurfaktan oleh sel dipengaruhi oleh salinitas. 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 (Budiarti, 2000).

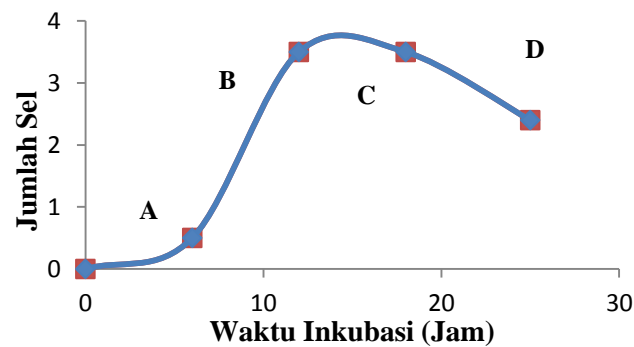
2.5.3 Waktu pertumbuhan kultur

Waktu pertumbuhan kultur merupakan faktor yang penting untuk memproduksi biosurfaktan dalam kultur *batch*. Semakin tua umur kultur maka semakin banyak nutrisi yang digunakan oleh mikroorganisme, sehingga nutrisi dalam media 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 deemulsifikasi emulsi minyak dalam air (Budiarti, 2000). Produksi biosurfaktan meningkat secara signifikan pada saat memasuki fase stasioner sampai fase kematian bakteri.

2.6 Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan menunjukkan meningkatnya jumlah sel menjadi dua kali lipat jumlah semula. Jika bakteri ditanam dalam suatu media pembiakan, maka bakteri akan terus tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum

dan pertumbuhan menjadi terbatas. Kalau sepanjang peristiwa ini tidak diadakan penambahan nutrisi atau penyaluran keluar produk-produk metabolisme, maka pertumbuhan dalam lingkungan seperti ini disebut kultur statik. Perkembangbiakan bakteri dapat dinyatakan dengan grafik logaritma jumlah sel versus waktu. Suatu kurva pertumbuhan (Gambar 1) dapat dibedakan dalam beberapa tahap pertumbuhan, yaitu tahap adaptasi (*lag-phase*), tahap eksponensial (logaritma), tahap stasioner dan tahap kematian.



Gambar 1. Kurva pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008).

Keterangan :

- A : Fase adaptasi/FaseLag
- B : Fase eksponensial/logaritma
- C : Fase stasioner
- D : Fase kematian

Tahapan dalam kurva pertumbuhan :

A. Fase adaptasi

Tahap adaptasi mencakup interval waktu antara saat penanaman dan saat tercapainya kecepatan pembelahan maksimum. Lamanya tahap adaptasi ini tergantung dari perkembangbiakan di awal, umur bahan yang ditanam, dan juga dari media pertumbuhan.

B. Fase eksponensial

Tahap pertumbuhan eksponensial atau logaritma mempunyai ciri kecepatan pembelahan maksimum yang konstan. Kecepatan pembelahan diri sepanjang tahap log bersifat spesifik untuk tiap jenis bakteri dan

tergantung lingkungan. Pada fase ini terbentuk senyawa yang diinginkan seperti, etanol, asam laktat dan asam organik lainnya (Purwoko, 2007). Pada fase ini dapat dipanen enzim-enzim (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006).

C. Fase stasioner

Tahap stasioner dimulai apabila sel-sel sudah tidak tumbuh lagi. Kecepatan pertumbuhan tergantung dari kadar substrat, dimana menurunnya kecepatan pertumbuhan sudah terjadi ketika kadar substrat berkurang dan sebelum substrat habis terpakai. Pengalihan dari tahap eksponensial ke tahap stasioner terjadi berangsur-angsur. Pada tahap ini mengalami penurunan kecepatan pertumbuhan karena keterbatasan substrat, kepadatan populasi yang tinggi, tekanan parsial oksigen yang rendah, dan timbunan produk metabolisme yang bersifat racun. Pada fase ini terbentuk produk metabolisme yang cenderung menumpuk yang dapat menjadi racun bagi bakteri yang bersangkutan. Sel akan berhenti membelah dan terjadi keseimbangan antara sel mati dengan sel hidup (Pelczar, 2005). Pada fase statis sel akan melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan. Adaptasi ini akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Karena biosurfaktan merupakan produk metabolit sekunder, maka dapat diproduksi pada fase ini (Schlegel, 1994). Selain itu, pada fase ini juga dihasilkan antibiotik dan antioksidan (Purwoko, 2007).

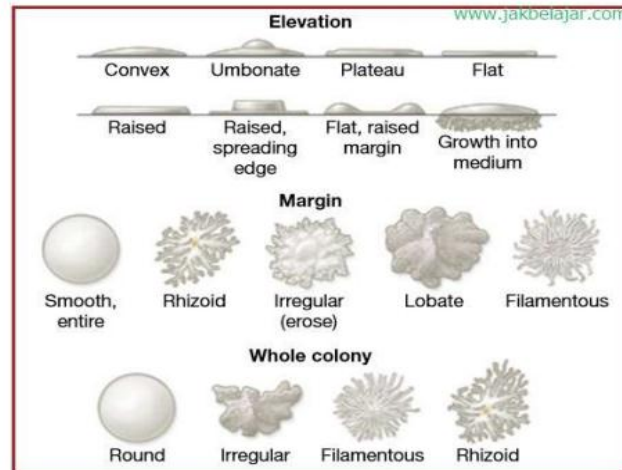
D. Fase kematian

Tahap kematian merupakan kematian sel bakteri dalam media pertumbuhan. Jumlah sel hidup dapat berkurang secara eksponensial, ada kemungkinan bahwa sel-sel dihancurkan oleh pengaruh enzim asal sel sendiri (otolisis). Jumlah sel yang mati akan lebih banyak dibandingkan sel yang hidup (Hidayat dkk., 2006).

2.7 Karakterisasi Morfologi dan Biokimia Bakteri

Uji biokimia bakteri adalah cara yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologisnya.

Karakterisasi isolat dapat dilakukan berdasarkan morfologi koloni dan sifat biokimianya. Karakterisasi morfologi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu secara makroskopis dan mikroskopis. Secara makroskopis, karakterisasi yang dilakukan dapat berupa pengamatan warna, bentuk, elevasi dan tepi koloni bakteri. Adapun bentuk –bentuk, elevasi dan tepi koloni dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Bentuk, elevasi dan tepi koloni bakteri (www.sciencebuddies.org).

Sedangkan, secara mikroskopis karakterisasi yang diamati meliputi pewarnaan gram, bentuk dan penataan sel bakteri, pewarnaan endospora dan motilitas. Karakterisasi untuk mengetahui sifat biokimia dari bakteri penghasil biosurfaktan dapat dilakukan dengan uji katalase (Cappuccino and Sherman, 2005).

Uji pewarnaan gram dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media padat harus dipindahkan ke kaca objek terlebih dahulu karena menghasilkan pertumbuhan yang tebal dan rapat. Pindahan ke kaca objek menggunakan jarum inokulasi steril dengan ujung jarum menyentuh biakan agar menghindari pemindahan sel yang terlalu banyak. Ujung jarum diputar diatas tetesan air sampai kelihatan semitransparan. Kemudian dilakukan fiksasi panas terhadap apusan biakan bakteri dengan melewati secara cepat apusan bakteri diatas api bunsen sebanyak 2 atau 3 kali. Jika tidak dilakukan

fiksasi maka apusan bakteri akan tercuci selama memasuki prosedur pewarnaan. Tujuan dilakukan fiksasi yaitu agar protein bakteri mengalami koagulasi dan melekat di atas permukaan kaca objek. Pada sel bakteri Gram negatif, kompleks kristal violet dapat dihilangkan dari lapisan peptidoglikan yang tidak tertaut silang dengan kuat. Pencucian dengan alkohol dapat melepaskan kompleks kristal violet yang tidak terikat sehingga sel menjadi kehilangan warna atau tidak berwarna. Alkohol dapat meningkatkan porositas dinding sel dengan melarutkan lipid lapisan luar. Karena sel Gram negatif kehilangan warna, sehingga sel-selnya dapat menyerap pewarna safranin dan berwarna merah. Sedangkan bakteri Gram positif tetap mempertahankan warna primer yaitu kristal violet sehingga menghasilkan warna ungu (Post and Songer, 2005).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waku dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni – Desember 2021 di Laboratorium Biokimia jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Karakterisasi bakteri dan uji hemolisis dilakukan di Laboratorium Bakteriologi Balai Veteriner Bandar Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Adapun alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Erlenmeyer, tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, pipet tetes, autoklaf, oven, penangas air, inkubator, *shaker incubator*, laminar air flow, *freezer*, Bunsen, vorteks, sentrifugasi, spektrofotometer UV Vis, jarum ose, mikropipet, neraca analitik, kapas, kassa, aluminium foil, plastik *wrap* dan spektrofotometer UV-Vis.

Adapun bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *nutrient* agar, *nutrient broth*, akuades, agar darah, kertas cakram, glukosa, nitrat, urea, sukrosa, dan media mineral *salt* medium yang meliputi KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Sterilisasi alat

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian terlebih dahulu dicuci dan dikeringkan. Alat yang telah bersih, kemudian dibungkus dengan kertas lalu disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu alat – alat dikeringkan menggunakan oven.

3.3.2 Pembuatan media

a. Media *nutrient agar* (NA)

Media NA dibuat dengan cara 2,8 gram NA ditimbang lalu dilarutkan ke dalam 100 mL akuades, dipanaskan di atas penangas air dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Setelah itu ditunggu sampai tidak terlalu panas dan dimasukkan ke dalam cawan petri masing – masing sebanyak 15 – 20 mL setelah membeku lalu dibungkus dengan plastik wrap. Proses ini dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*. Media *Nutrient Agar* digunakan untuk meremajakan isolat bakteri.

b. Media *nutrient broth* (NB)

Sebanyak 1,3 gram *Nutrient Broth* ditimbang lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan 100 mL akuades lalu dipanaskan hingga mendidih. Kemudian ditutup dengan sumbat dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Media *Nutrient Broth* merupakan media yang digunakan sebagai media inokulum atau adaptasi bakteri.

c. Media agar darah

Media agar darah 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* 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 – 7% darah kambing. Selanjutnya media dituang ke dalam cawan petri yang steril hingga membeku dan siap untuk digunakan (Cheesbrough, 2000).

d. *Mineral salt medium* (MSM)

Media *Mineral Salt Medium* (MSM) ini digunakan untuk inokulasi bakteri penghasil biosurfaktan. Komposisi MSM yang digunakan adalah KH_2PO_4 2 g/L, K_2HPO_4 5 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 g/L, NaCl 0.1 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.002 g/L (b/v) lalu dilarutkan dalam akuades kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Media *Mineral Salt Medium* (MSM) merupakan media selektif untuk pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Nurlaila, 2016).

3.3.3 Peremajaan bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara isolat BSPP-1c diambil 1 ose lalu digoreskan ke media NA miring kemudian diinkubasi selama 24 – 48 jam pada suhu 37°C . Prosesnya dilakukan dalam keadaan aseptik. Setelah itu biakan hasil peremajaan siap digunakan sebagai stok kultur dan disimpan didalam lemari pendingin 4°C (Kalyani *et al.*, 2014).

3.3.4 Karakterisasi biokimia

Karakterisasi morfologi bakteri meliputi pengamatan secara makroskopik dan mikroskopik. Karakteristik biokimia diamati dengan melakukan pengujian katalase.

a. Pewarnaan bakteri

Uji pewarnaan Gram merupakan uji morfologi secara mikroskopis yang dilakukan untuk mengetahui sifat gram dari bakteri yang akan diuji. Biakan bakteri yang digunakan telah diremajakan selama 24 jam. Pertama-tama, kaca objek dibersihkan dengan alkohol dan dipanaskan menggunakan api spiritus sampai kering. Setelah itu, diambil biakan bakteri sebanyak 1 ose secara aseptis, diletakkan pada kaca objek, diratakan hingga membentuk lapisan tipis, dan

dikering anginkan. Setelah kering dilakukan fiksasi dengan melewati kaca objek diatas api spritus \pm 5-7 kali. Kemudian diteteskan 2-3 tetes larutan cat kristal violet pada lapisan biakan bakteri di kaca objek, didiamkan selama 1 menit, dicuci dengan akuades dan dikeringkan. Setelah kering, teteskan larutan lugol dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci dengan akuades dan dikeringkan. Langkah selanjutnya yaitu dicuci dengan larutan alkohol selama \pm 30 detik dan dikeringkan. Selanjutnya, ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama 1 menit, kemudian dicuci kembali dengan akuades dan dikeringkan. Hasil diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 10 x 100, kemudian dilakukan pengambilan gambar menggunakan kamera.

Pengecatan Gram termasuk pengecatan deferensial karena dapat membedakan bakteri yang memiliki Gram positif dan Gram negatif. Bakteri Gram positif adalah bakteri yang dapat mengikat cat utama dengan kuat dan tidak dapat dilunturkan dengan peluntur cat sehingga warna sel bakteri tetap ungu. Sedangkan bakteri Gram negatif adalah bakteri yang tidak mengikat cat utama dengan kuat sehingga dapat dilunturkan dengan peluntur cat. Sel bakteri Gram negatif akan terwarnai oleh cat penutup yaitu safranin sehingga sel bakteri berwarna merah (Jutono *et al.*, 1993).

b. Uji katalase

Uji katalase merupakan salah satu uji sifat biokimia. Biakan bakteri yang digunakan telah diremajakan selama 24 jam. Biakan uji diambil sebanyak satu ose dan ditetesi dengan H₂O₂ 3% sebanyak 1-2 tetes pada kaca objek. Hasil uji positif bila dihasilkan buih atau gelembung gas dan hasil negatif bila tidak dihasilkan buih atau gelembung. Kemudian gambar hasil uji diambil menggunakan kamera (Jutono *et al.*, 1993).

3.3.5 Uji biosurfaktan

Uji biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri yang digunakan dalam menghasilkan biosurfaktan yaitu uji hemolisis, emulsifikasi, *drop collapse* dan *oil spread*.

a. Hemolisis

Uji ini dilakukan dengan cara kertas cakram yang sudah steril ditetaskan dengan inokulum bakteri. Cakram yang seluruh bagiannya sudah ditetesi kemudian diletakkan di atas permukaan media agar darah dan diinkubasi selama 48 – 72 jam. Jika bakteri tersebut merupakan bakteri penghasil biosurfaktan maka akan terlihat zona bening disekitar koloni yang menunjukkan adanya aktivitas β -hemolitik (Gozan *et al.*, 2014).

b. Indeks emulsifikasi

Uji Indeks emulsifikasi dilakukan dengan cara kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Selanjutnya sebanyak 2 mL supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL hidrokarbon sebagai substrat non polar pembentuk emulsi. Kemudian divortex 2 menit lalu didiamkan selama 24 jam dan dihitung nilai indeks emulsifikasi nya (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. *Drop collapse*

Kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10.000 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 (Plaza *et al.*, 2006). Hasil uji dinyatakan positif jika tetesan berubah menjadi datar atau melebar, sedangkan uji dinyatakan negatif jika bentuk tetesan di atas permukaan hidrokarbon tidak berubah atau tetap berbentuk bulat atau cembung.

d. Oil spread

Kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Akuades dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 mL lalu ditambahkan hidrokarbon di atasnya hingga terbentuk lapisan tipis pada permukaan akuades. Lalu tambahkan 1 tetes (20 μ L) supernatan pada tengah lapisan hidrokarbon. Hasil positif ditandai dengan memisahkannya minyak dengan membentuk zona bening. Larutan akuades digunakan sebagai kontrol negatif (Gozan *et al.*, 2014).

3.3.6 Kurva pertumbuhan

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 10 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 2% 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 24 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).

3.3.7 Optimasi produksi biosurfaktan

a. Optimasi konsentrasi inokulum

Variasi jumlah inokulum dilakukan untuk mengetahui jumlah inokulum terbaik yang menunjang produksi biosurfaktan yang terbanyak. Uji ini dilakukan dengan cara 1 ose bakteri diambil dan diinokulasi ke media NB selama 24 jam lalu jumlah inokulum divariasikan 5%, 10%, dan 15% (v/v). Masing – masing variasi konsentrasi inokulum dimasukkan ke dalam media MSM. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama waktu optimumnya. Biosurfaktan yang terbentuk kemudian disentrifugasi selama 15 menit lalu supernatan dipisahkan dari pellet untuk dilakukan uji emulsifikasi. Jumlah inokulum terbaik dapat diketahui dari kultur dengan nilai hasil uji emulsifikasi paling besar (Nugroho, 2006).

b. Optimasi sumber karbon

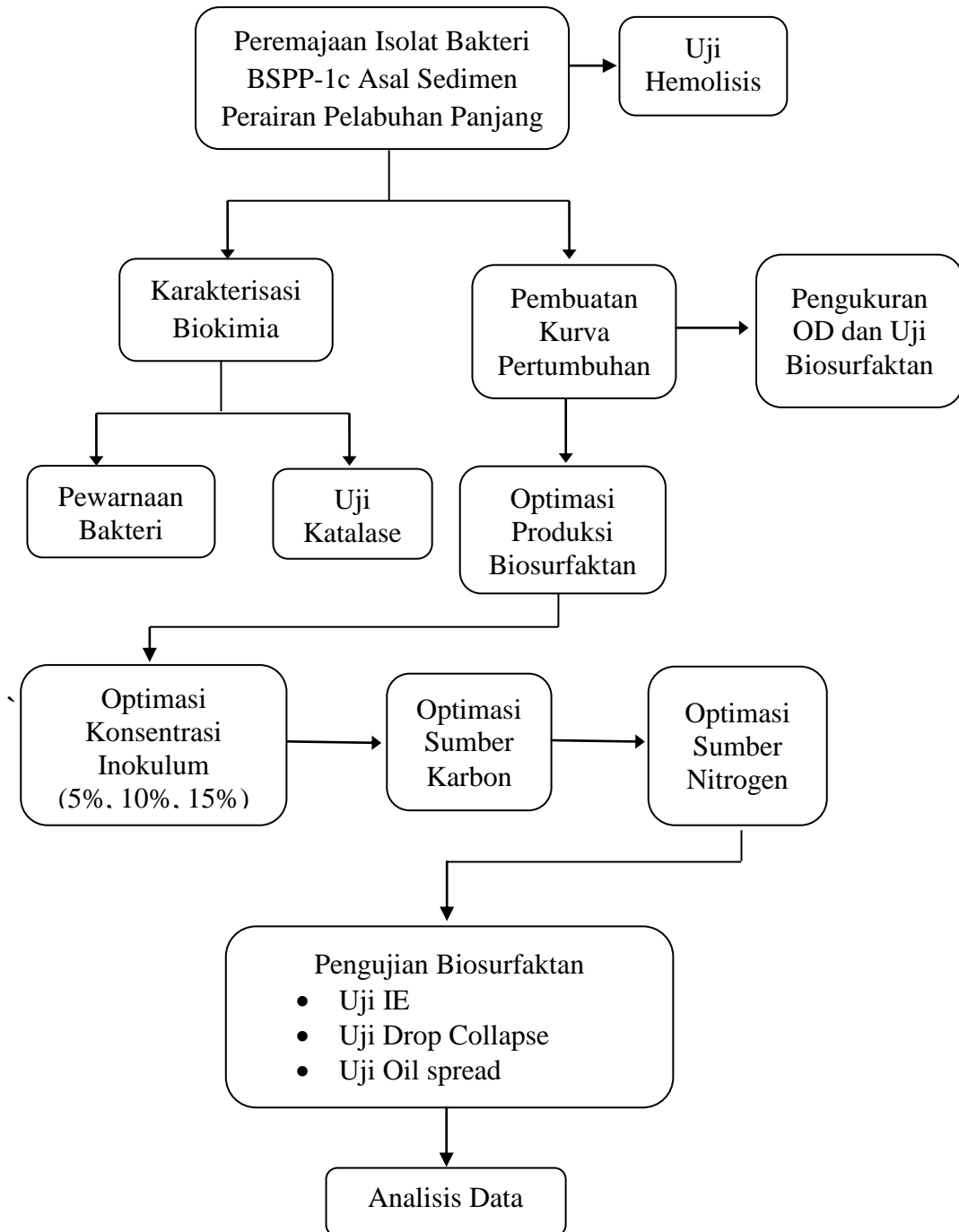
Optimasi sumber karbon dilakukan untuk mengetahui sumber karbon optimum dalam produksi biosurfaktan. Uji ini dilakukan dengan cara 1 ose bakteri diambil dan diinokulasi ke media NB selama 24 jam lalu inokulum diambil sebanyak konsentrasi optimum, lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer hanya berisikan media MSM sebagai kontrol dan media MSM lainnya dengan penambahan 2 sumber karbon yaitu glukosa dan sukrosa 2% (Abouseoud dkk., 2008). Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30°C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama waktu optimumnya. Biosurfaktan yang terbentuk disentrifugasi selama 15 menit lalu supernatan dipisahkan dari pellet untuk dilakukan uji emulsifikasi (Nugroho, 2006).

c. Optimasi sumber nitrogen

Optimasi sumber nitrogen dilakukan untuk mengetahui sumber nitrogen optimum dalam produksi biosurfaktan. Uji ini dilakukan

dengan cara 1 ose bakteri diambil dan diinokulasi ke media NB selama 24 jam selanjutnya inokulum diambil sebanyak konsentrasi optimum dan masing – masing dimasukan ke dalam media MSM dengan sumber karbon optimum sebagai kontrol, yang lainnya ke dalam media MSM yang telah ditambahkan sumber nitrogen urea dan nitrat 0,3% (Abouseoud dkk., 2008). Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30°C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama waktu optimumnya. Biosurfaktan yang terbentuk disentrifugasi selama 15 menit lalu supernatan dipisahkan dari pellet untuk dilakukan uji emulsifikasi (Nugroho, 2006).

3.3.8 Diagram Air Penelitian



Gambar 3. Bagan alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Isolat BSPP-1c asal sedimen perairan pelabuhan Panjang dapat menghasilkan biosurfaktan dengan kondisi optimum produksi pada konsentrasi inokulum 5% dengan nilai %IE₂₄ 100%, uji *oil spread* 7 mm dan *drop collapse* positif, sumber karbon optimum glukosa 2% dengan nilai %IE₂₄ 84,21%, uji *oil spread* 21 mm dan *drop collapse* positif dan sumber nitrogen urea 0,3% dengan nilai %IE₂₄ 77,78%, uji *oil spread* 30 mm dan *drop collapse* positif dengan waktu inkubasi optimum 96 jam.
2. Karakteristik biokimia bakteri isolat BSPP-1c asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang secara makroskopis memiliki tepi halus, elevasi cembung, berwarna jingga. Pengamatan secara mikroskopis bersifat gram negatif dan memiliki bentuk sel *coccus*. Berdasarkan uji biokimia isolat BSPP-1c merupakan bakteri yang bersifat katalase positif dan termasuk dalam golongan *Neisseria* sp .

5.2 Saran

Adapun saran yang harus dilakukan untuk penelitian selanjutnya adalah :

1. Melakukan identifikasi molekular bakteri isolat BSPP-1c asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan.
2. Melakukan optimasi produksi biosurfaktan menggunakan parameter lain seperti salinitas, pH, variasi aerasi, variasi konsentrasi sumber karbon dan nitrogen pada pertumbuhan isolat BSPP-1c.

3. Melakukan produksi biosurfaktan dan melakukan mengkarakterisasi biosurfaktan menggunakan FTIR, KLT, dan MS untuk mengetahui jenis biosurfaktan yang dihasilkan.
4. Mengaplikasikan biosurfaktan yang diperoleh dalam berbagai bidang.

DAFTAR PUSTAKA

- Abouseoud, M., Maachi, R., Amrane, A., Boudergua, S. and Nabi, A. 2008. Evaluation of Different Carbon and Nitrogen Sources in Production of Biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. *Desalination*. 223(1-3), 143-151.
- Abouseoud, M., R.Maachi and A. Amrane. 2007. *Biosurfactant Production From Olive Oil by Pseudomonas fluorescens*. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology*.340-347.
- AL-Araji, L., Rahman, R. N., Basri, M. and Salleh, A. B. 2007. Microbial Surfactant. *Journal. Molecular Biol and Biotechn.* 15(3):99-105.
- Andriana, S.E., Sudiana, M., Sembiring, L. 2009. *Bakteri Laut Pantai Sorong Papua Barat Pendegradasi Komponen Crude Oil*. Prosiding Seminar Nasional Biologi. Yogyakarta.
- Arora, S.K., Sony, J. and Sharma, A. 2015. Production and Characterization of Biosurfactant from *Pseudomonas* sp. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 4(1): 245-253.
- Batista, S., Mounteer, A., and Amorim, F. 2006. Isolation and Characterization of Biosurfactant Producing Bacteria from Petroleum Contaminated Sites. *Journal Bioresour Technol.* 97:868-875.
- Batubara, N. R. 2011. *Optimasi Produksi Biosurfaktan oleh Pseudomonas Aureginosa dengan Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen*. Prosiding Seminar Nasional Biologi. Medan.
- Belcher, R.W., Huynh, K.V., Hoang, T.V. and Crowley, D.E. 2012. Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria from The Rancho La Brea Tar Pits. *World Microbiol Biotechnol.* 28: 3261–3267.
- Bidlan, R., Rastogi, N.K. dan Manonmani, H.K. 2007. Optimised Production of Biosurfactant by *Serratiamarcescens* DT-IP. *Research Journal of Microbiology*.2 (10): 705-716.
- Budiarti, R. S. 2000. Optimasi Konsentrasi *Crude Oil* dan Sumber Nitrogen Pada Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik dari

- Bangko. (Tesis). Fakultas Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Cappuccino, J. G and Sherman, N. 2005. *Microbiology a Laboratory Manual 7th Edition*. Pearson Education, Inc. Publishing as Benjamin Cummings. San Fransisco.
- Cheesbrough, M. 2000. *District Laboratory Practice in Tropical Countries (Part 2)*. Combridge University Press. England.
- Citra, S. dan Nurhasanah. 2021. Skrining Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Air Laut Tercemar Minyak di Pelabuhan Panjang Lampung. *Rafflesia Journal of Natural and Applied Science*.
- Cowan, S.T. and Steel, K.J. 1974. *Manual for Identification of Medical Bacteria Second Edition*. Cambridge University Press. London.
- Das, P., Mukherjee, S. and Sen, R. 2008. Antimicrobial Potential of A Lipopeptide Biosurfactant Derived from A Marine Bacillus Circulans. *Journal Application Microbiological*. 104:1675-1684.
- Desai, J. D. and Banat, I. M. 1997. *Microbial Production of Surfactans and Their Commercial Potensial*. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 54-55.
- 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. *Journal of Biological Sciences*. 22(4):466-475.
- El-Sheshtawy, H. S. and Doheim, M. M. 2014. Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for Biosurfactant Production and Studies of its Antimicrobial Activity. *Journal of Petroleum*. 23:1-6.
- Fatimah. 2007. *Uji Produksi Biosurfaktan oleh Pseudomonas sp. pada Substrat yang Berbeda*. Berkala Penelitian Hayati. (12): 181-185.
- Francy, D. S., Thomas, J. M., Raymond, R. L. and Ward, C. H. 1991. Emulsification of Hydrocarbons by Subsurface Bacteria. *Journal Ind Microbiol* 8:237:246.
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W. 2006. *Mikologi: Dasar dan Terapan*. Jakarta. Yayasan Obor Indonesia.
- Gosalam, S., Tahir, A. dan Silviana, J. L. 2008. Uji Kemampuan Bakteri dari Perairan dalam Mendegradasi Senyawa Minyak Solar. *Journal Torani*. 18(2):171-178.

- Gozan, M., Fatimah, N. I., Nanda, C. dan Haris, A. 2014. *Produksi Biosurfaktan oleh Pseudomonas Aeruginosa dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi*. Warta IHP.31(2),39-44.
- Gujar, R. S. and Hamde, V. S. 2011. Screening and Optimization of Biosurfactant Producing Bacteria from Oil Mill Area MIDC. *Journal of Ecobiotechnology*. 3(11): 12-14.
- Hidayat, N., Padagadan, M. C. dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta. Andi.
- Himeka, Y. and Kaneko, K. 2016. Theory for Transition Between Log and Stationary Phases: Universal Laws for Lag Time. *Journal Biol Phys*. 1-17.
- 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*. *Chemosphere*. 61(7): 985-992.
- Irianto. 2006. *Mikrobiologi Menguk Dunia Mikrobiologi*. CV Yrama Widya. Bandung.
- Jaysree, R. C., Basu, S., Singh, P. P., Ghosal, T., Patra, P.A., Keerthi, Y. and Rajendran, N. 2011. *Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria from Environmental Samples*. *Pharmacology*. 3:1427-1433.
- Jennings, E. M. and Tanner, R.S. 2000. *Biosurfactant-Producing Bacteria Found In Contaminated and Uncontaminated Soils*. *Proceedings of the 2000 Conference Hazardous Waste Research* [Internet]. May 23-25; Denver, Colorado (US). hlm 299-306; [diunduh 2012 Des 8]. Tersedia pada: <https://www.engg.ksu.edu/HSRC/00Proceed/>.
- Jutono, S. J., Hartadi, S., Kabirun, S., Suhadi dan Soesanto. 1993. *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum*. Departemen Mikrobiologi Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- 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. *Journal of Research in Eng and Techn*. 3:357- 364.
- Kumar, M., Leon, V., De Sisto Materano, A., Ilzins, O. A. and Luis, L. 2008. Biosurfactant Production and Hydrocarbon Degradation by Halotolerant and Thermotolerant Pseudomonas sp. *World Journal Microbiol Biotechnol*. 24: 1047-1057.
- Leahy, J.G. and R.R. Colwell. 2000. *Microbial Degradation of Hydrocarbons in the Environments: Microbiological Reviews*. 54 (3), 305-315.

- Liu, T., Hou, J., Zuo, Y., Bi, S. and Jing, J. 2011. Isolation and Characterization of a Biosurfactant-Producing Bacterium from Daqing Oil-Contaminated Sites. *Afr Journal Microbiol Res.* 5(21): 3509.
- Maier, R. M. 2000. *Pseudomonas Aeruginosa* Rhamnolipids: Biosynthesis and Potential Application. *Journal Appl Microbiol Biotechnol.* 54: 625-633.
- Makkar, R. S. and Cameotra, S. S. 2002. Effect Various Nutritional Supplements on Biosurfactant Production by a Strain of *Bacillus substilis* at 45 °C. *Journal of Surfactant and Detergent.* 5(1):11-17.
- Mishra, M., Muthuprasanna., Surya., Sobhita., Satish., Sarath., G. Arunachalam and Shalini. 2009. Basics and Potential Applications of Surfactants-a Review. *International Journal of Pharm Tech Research.* 1: 1354-1365.
- Muthusamy, K., Gopalakrishnan, S., Ravi, T. K., and Sivachidambaram, P. 2008. Biosurfactants- Properties, Commercial Production and Application. *Current Science.* 94:736-774.
- Nitschke, M., Costa, S. and Contiero, J. 2010. Structure and Application of a Rhamnolipid Surfactant Produced in Soybean Oil Waste. *Journal Appl Biochem Biotechnol.* 160:2066-2074.
- Nugroho, A. 2006. *Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment.* Makara Teknol. 10(2):82-89.
- Nurlaila, H. S. 2016. Optimasi Produksi Biosurfaktan dari *Pseudomonas Aeruginosa* pada Media Mengandung Solar. (*Skripsi*). Departemen Biokimia. IPB. Bogor.
- Pandey, A., Mishra, M. and Rai, V. 2014. Optimization and Characterization of Biosurfactant Producing Microbes and Expression of Biosurfact Producing Genes in Non Biosurfactant Producing Microbes. *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences.* 3(1)47-56.
- Pelczar, M. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi.* Jakarta. UI Press.
- Pereira, J. P. B., Gudiña, E.J., Cosra, R., Vitorino, R., Teixeira, J.A., Coutinho. 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. *Journal of Petroleum Sci and Eng.* 50:71-77.

- Post, K. W. And G. J. Songer. 2005. *Microbiology Bacterial and Fungal Agent of Animal Disease*. Elsevier Saunders. Philadelphia.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga. Jakarta.
- Priyani, N., Erman, M. dan Nikmah, R. B. 2011. *Optimasi Produksi Biosurfaktan oleh Pseudomonas Aureginosa dengan Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen*. Prosiding Seminar Nasional Biologi. Medan.
- Pujiati, R., Kiswardianta, B. dan Wahyuni, S. 2014. *Pengaruh Konsentrasi Inokulum dan Waktu Inkubasi terhadap Aktivitas Crude Enzim Selulase dari Kapang Trichoderma Sp.* Prosiding Seminar Nasional Biologi 2014. ISBN: 978- 602- 0951- 03- 4. Surabaya.
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta. Bumi Aksara.
- Rahman, K. S. M. and Gakpe, E. 2008. *Production, Characterization and Application of Biosurfactants-Review*. *Biotechnology*. 7(2):360-370.
- Rashedi, H., Jamshidi, E., Assadi, M. M. and Bonakdarpour, B.. 2005. Isolation and Production of Biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Iranian Southern Wells Oil. *International Journal Environmental Science Technology* 2(2): 121-127.
- Ron, E and Rosenberg, E. 2001. Natural Roles of Biosurfactants. *Environ Microbiology*. 3(4):229-236.
- Ruzniza. 2005. Production of Biosurfactant by Locally Isolated Bacteria from Petrochemical Waste. (*Thesis*). Faculty of Science University Teknologi Malaysia.
- Sahara, B. S., Sahu, S. K. and Sharma, D. 2011. An Overview on Biosurfactants. *Journal Genetic Engineering and Biotechnology*. 20(2):2932.
- 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. *Journal Basic Microbiol*. 51:1-12.
- Sandri, D. 2009. Bakteri Hidrokarbonolastik Tanah Tercemar Penghasil Biosurfaktan: Sricing dan Identifikasi Bakteri ,Optimasi Produksi dan Karakterisasi Produknya. (*Tesis*). Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang.
- Shoeb, E., Badar, U., Akhter, J., Ansari, F. A., Waqar, M. and Ansari, M. A. 2012. Screening of Surfactant Producing Bacterial Galurs Isolated from Soil Samples of an Automobile Workshop. *Kar Univ Journal Sci*. 40:31-36.

- Singh, V. 2012. Biosurfactant - Isolation, Production, Purification and Significance. *Int Journal Sci Res Pub.* 2(7):1-4.
- Suryani, A., Sailah, I., dan Hambali, E. 2000. *Teknologi Emulsi*. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Bogor.
- Suryatmana, P. E. K., Ratnaningsih, E. dan Wisjnuprpto. 2006. Karakteristik Biosurfaktan dari *Azotobacter chroococcum*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia.* 2(1):30-34.
- Widjayanti, 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 Propinsi Sumatera Selatan*. Laporan Penelitian Universitas Sriwijaya. 1-41 hlm.
- Yataghene, A. M., Abouseoud, R., Maachi and Amrane, A.. 2008. *Effect of the Carbon and Nitrogen Sources on Biosurfactant Production by Pseudomonas Fluorescens Biosurfactant Characterization*. (www.aidic.it/IBIC2008/webpapers/71Yataghene.pdf).
- 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. *Journal Microbiol.* 56:339-347.
- Yuliana, C., Hertadi, R. dan Wahyuningrum, D. 2019. Produksi dan Optimasi Biosurfaktan dari Bakteri Halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18. *CHEESA: Chemical Engineering Research Articles.* 2(2): 56-65.
- Yulistia, L., Munawar. dan Widjayanti, H. 2015. *Biodiversitas Bakteri dari Limbah Abu Batubara Asal Pabrik Minyak Goreng di Kumai, Kalimantan Tengah*. Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1: 1302-1306.
- Yusnidar, M. 2021. Produksi dan Karakterisasi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen ALP E1 Air Laut Pelabuhan Panjang serta Uji Antibakteri dan Antijamur. (*Skripsi*). Universitas Lampung.
- Zajic, J.E., Guignard, H. and Gerson, F. D. 1977. Emulsifying and Surface Active Agents from *Corynebacterium Hydrocarbonclatus*. *Biotechnology And Bioengineering.* 19: 1285-1301.