

UJI AKTIVITAS BIOSURFAKTAN ISOLAT BAKTERI *Serratia marcescens* strain MBC1 YANG DIPRODUKSI PADA BERBAGAI JENIS MEDIA DENGAN VARIASI PH TERHADAP SOLAR

(Skripsi)

Oleh
CINDY LUKYTA RATIH RIYANTO
NPM. 1717021074



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

ABSTRAK

UJI AKTIVITAS BIOSURFAKTAN ISOLAT BAKTERI *Serratia marcescens* strain MBC1 YANG DIPRODUKSI PADA BERBAGAI JENIS MEDIA DENGAN VARIASI PH TERHADAP SOLAR

Oleh

CINDY LUKYTA RATIH RIYANTO

Resiko pencemaran lingkungan akibat tumpahan solar meningkat tiap tahunnya, oleh karena itu diperlukan upaya ramah lingkungan dengan biaya produksi rendah. Penelitian ini menggunakan bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 dengan tujuan menguji aktivitas biosurfaktan yang dihasilkan dalam melarutkan solar. Bakteri ini ditumbuhkan pada media produksi *Trypton Water*, limbah cair singkong, dan limbah cair jagung yang masing-masing telah diberi variasi pH yaitu 6, 7, dan 8 kemudian diinkubasi selama 7 hari. Biosurfaktan dari media produksi dipanen dengan sentrifuse dan diuji aktivitas biosurfaktan dengan 3 parameter uji yaitu uji *drop collapse*, uji *oil displacement*, dan uji emulsifikasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biosurfaktan yang dihasilkan dari ketiga jenis media produksi mampu melarutkan solar. Hal ini ditunjukkan dengan menurunnya tegangan permukaan pada uji *drop collapse* sehingga droplet berbentuk datar, terbentuknya zona jernih paling optimum pada uji *oil displacement* dari media *Tryptone Water* sebesar 5,31 cm dan terbentuknya emulsi paling optimum pada uji emulsifikasi dari media limbah cair jagung sebesar 63,88%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH 7 adalah pH optimum biosurfaktan dalam melarutkan solar. Penimbangan biomassa paling besar dihasilkan pada pH 7 di media *Tryptone Water*, dilanjutkan dengan limbah cair jagung dan singkong. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan masing-masing dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji non parametrik Friedman dan disajikan dalam bentuk tabel, gambar, dan grafik.

Kata Kunci: Biosurfaktan, *Serratia marcescens* strain MBC1, Solar

ABSTRACT

BIOSURFACTANT ACTIVITY TEST FROM BACTERIAL ISOLATE OF *Serratia marcescens* strain MBC1 PRODUCED ON VARIOUS TYPES OF MEDIUM WITH PH VARIATION ON DIESEL FUEL

Oleh

CINDY LUKYTA RATIH RIYANTO

The risk of environmental pollution due to diesel fuel spills increases every year. Therefore, efforts are needed that are safe for the environment with low production costs. This study used the bacterium *Serratia marcescens* strain MBC1 with the aim of testing the activity of the biosurfactant produced in dissolving diesel fuel. These bacteria were grown on Trypton Water production media, cassava wastewater, and corn wastewater, each of which had been given a pH variation of 6, 7, and 8 and then incubated for 7 days. Biosurfactants from production media were harvested by centrifugation and tested for biosurfactant activity with 3 test parameters, namely drop collapse test, oil displacement test, and emulsification test. The results showed that the biosurfactants produced from the three types of production media were able to dissolve diesel fuel. This is indicated by the decrease in surface tension in the drop collapse test so that the droplets are flat, the formation of the most optimum clear zone in the oil displacement test from the Tryptone Water medium of 5.31 cm and the formation of the most optimum emulsion in the emulsification test of the corn wastewater media of 63,88%. The results showed that pH 7 was the optimum pH of biosurfactants in dissolving diesel fuel. The largest biomass weighing was produced at pH 7 in Tryptone Water media, followed by corn and cassava wastewater. This study used a completely randomized design (CRD) with 6 treatments, each of which was repeated 3 times. The data obtained were analyzed using Friedman's non-parametric test and presented in the form of tables, figures, and graphs.

Kata Kunci: Biosurfactant, *Serratia marcescens* strain MBC1, Diesel Fuel

UJI AKTIVITAS BIOSURFAKTAN ISOLAT BAKTERI *Serratia marcescens* strain MBC1 YANG DIPRODUKSI PADA BERBAGAI JENIS MEDIA DENGAN VARIASI PH TERHADAP SOLAR

Oleh

CINDY LUKYTA RATIH RIYANTO

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar SARJANA SAINS

Pada

**Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2021**

Judul Skripsi : **UJI AKTIVITAS BIOSURFAKTAN ISOLAT BAKTERI *Serratia marcescens* strain MBC1 YANG DIPRODUKSI PADA BERBAGAI JENIS MEDIA DENGAN VARIASI PH TERHADAP SOLAR**

Nama Mahasiswa : **Cindy Lukyta Ratih Riyanto**

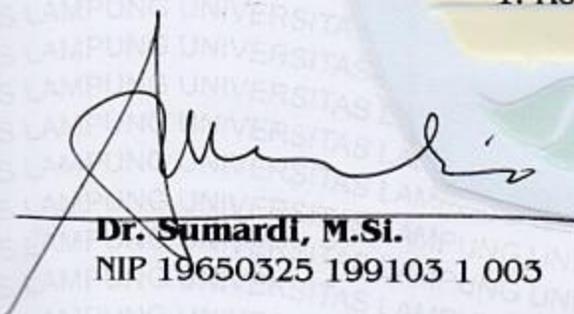
Nomor Pokok Mahasiswa : 1717021074

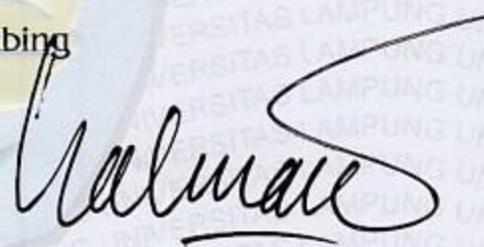
Program Studi : S1 Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

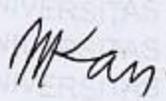


1. Komisi Pembimbing


Dr. Sumardi, M.Si.
NIP 19650325 199103 1 003


Ir. Salman Farisi, M.Si.
NIP 19610418 198703 1 001

2. Ketua Jurusan Biologi


Drs. M. Kanedi, M.Si.
NIP 19610112 199103 1 002

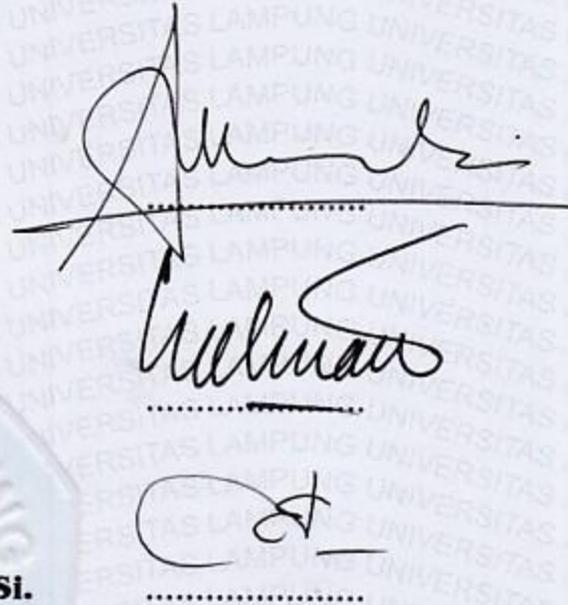
MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : **Dr. Sumardi, M.Si.**

Anggota : **Ir. Salman Farisi, M.Si.**

Penguji Utama : **Dra. C. Nugroho Ekowati, M.Si.**



.....
.....
.....



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **03 Agustus 2021**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Cindy Lukyta Ratih Riyanto
NPM : 1717021074
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

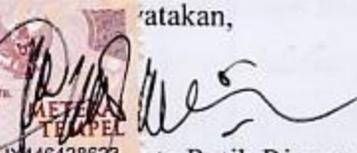
Menyatakan dengan sesungguhnya dan sejujurnya, bahwa skripsi Saya yang berjudul:

“UJI AKTIVITAS BIOSURFAKTAN ISOLAT BAKTERI *Serratia marcescens* strain MBC1 YANG DIPRODUKSI PADA BERBAGAI JENIS MEDIA DENGAN VARIASI PH TERHADAP SOLAR”

Baik data maupun pembahasannya adalah **benar** karya Saya sendiri yang Saya susun dengan mengikuti norma dan etika yang berlaku dan Saya memastikan bahwa tingkat similaritas skripsi ini tidak lebih dari 40%.

Jika dikemudian hari terbukti pernyataan Saya tidak benar, Saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar sarjana maupun tuntutan hukum.

Bandar Lampung, 27 September 2021

atakan,

yta Ratih Riyanto)

NPM. 1717021074

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Gedongtataan, Pesawaran pada tanggal 04 April 1999 dari pasangan Bapak Sugeng Riyanto dan Ibu Indriyani sebagai putri pertama dari dua bersaudara. Penulis menempuh pendidikan di Taman Kanak-kanak Darmawanita Bumi Dipasena Makmur pada tahun 2003 – 2005. Penulis melanjutkan pendidikan di SDN 01 Bagelen, Gedongtataan, Pesawaran pada tahun 2005 – 2011. Setelah lulus pendidikan dasar, penulis melanjutkan pendidikan menengah pertama di SMPN 1 Gedongtataan, Pesawaran pada tahun 2011 – 2014. Penulis melanjutkan pendidikan menengah atas di SMAN 1 Gadingrejo, Pringsewu pada tahun 2014 – 2017. Setelah lulus dari pendidikan menengah atas, penulis melanjutkan studi di Universitas Lampung. Penulis resmi terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN pada tahun 2017. Penulis menyelesaikan studi dari perguruan tinggi dan meraih gelar Sarjana Sains pada 03 Agustus 2021. Pada semester awal, penulis melaksanakan kegiatan Karya Wisata Ilmiah (KWI) di Desa Gunung Rejo, Kecamatan Way Ratai, Kabupaten Pesawaran selama 6 hari. Selama menjadi mahasiswa Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung, penulis aktif berkontribusi pada Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA Universitas Lampung sebagai Staff Ahli Administrasi Periode 2018. Selain itu, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) FMIPA Universitas Lampung sebagai Sekertaris Bidang Kaderisasi Periode 2019 dan sebagai Sekertaris Koordinator Acara Kabaret Konservasi Pekan Konservasi Sumber Daya Alam ke-23. Penulis membantu dosen dengan menjadi asisten laboratorium selama 3 tahun khususnya mata kuliah Mikrobiologi Umum dan Bioteknologi. Pada awal tahun 2020 penulis melaksanakan kerja praktik di PT. Phillips Seafoods Indonesia dan menyusun Laporan Kerja Praktik dengan judul “Deteksi

Cemaran *Staphylococcus aureus* pada Produk *Value Added* di Laboratorium PT. Phillips Seafood Indonesia Bandar Lampung”. Setelah menyelesaikan kerja praktik, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Mandiri di Desa Bagelen, Kecamatan Gedongtataan, Kabupaten Pesawaran, Lampung.

PERSEMBAHAN

Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT dengan segala nikmat dan karunianya sehingga penyusunan karya tulis ini dapat terselesaikan dengan baik. Karya ini kupersembahkan sebagai wujud tanggung jawab kepada orang tercinta:

Kedua orang tuaku, Bapak Sugeng Riyanto dan Ibu Indriyani, sosok yang paling berjasa dalam hidupku, yang telah mendukung impian dan cita-citaku dalam bentuk finansial maupun emosional.

Adikku, Adinda Yeyen Dwi Larasati Riyanto, sosok yang telah hadir dan memberikan keceriaan dalam hidupku

Sahabat-sahabatku, penyemangat dikala jatuh dan bangkitku

Almamater Tercinta
“Universitas Lampung”

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur kehadirat Allah SWT. yang selalu mencurahkan rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan Judul **“UJI AKTIVITAS BIOSURFAKTAN ISOLAT BAKTERI *Serratia marcescens* strain MBC1 YANG DIPRODUKSI PADA BERBAGAI JENIS MEDIA DENGAN VARIASI PH TERHADAP SOLAR”**.

Dalam melaksanakan penelitian dan penyusunan skripsi ini penulis menyadari masih terdapat kekurangan. Namun, atas kemudahan dari Allah SWT. dan dukungan pihak-pihak terkait, seluruh kendala dan kesulitan dapat teratasi. Untuk itu penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung
2. Bapak Drs. M. Kanedi, M.Si. selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung
3. Ibu Kusuma Handayani, S.Si., M.Si. selaku Kepala Program Studi S1 Biologi FMIPA Universitas Lampung
4. Bapak Dr. Sumardi, M.Si. selaku pembimbing 1 yang telah memberikan bimbingan dan dukungan kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi
5. Bapak Ir. Salman Farisi, M.Si. selaku pembimbing 2 yang telah banyak membantu dan memberikan motivasi kepada penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi
6. Ibu Dra. Christina Nugroho Ekowati, M.Si. selaku pembahas yang telah memberikan masukan mendetail kepada penulis terkait penulisan skripsi
7. Bapak Achmad Arifiyanto, M.Si. yang telah memberikan proyek penelitian dan arahan selama penelitian

8. Kedua orang tua Bapak Sugeng Riyanto dan Ibu Indriyani, serta adik Adinda Yeyen Dwi Larasati Riyanto yang selalu mendukung dan memberikan semangat kepada penulis dari awal hingga akhir masa studi
9. Ibu Oni Mastuti, S.Si. selaku laboran Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung yang selalu sabar mendengar keluh kesah penulis dan memberikan keceriaan selama penelitian
10. Keluarga Mikrobiologi 2017 “MINTUY 17” yang saling membantu saat pelaksanaan penelitian dan seminar
11. Meishy Handerlin Putri dan Berliana Damayanti rekan penelitian “PHILLIPS FIGHTER” yang selalu menguatkan dan memberikan bantuan kepada penulis selama penelitian
12. Keluarga Biologi 2017 kelas B yang selalu menghibur dan memberi keceriaan selama 4 tahun masa studi
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam skripsi ini, namun besar harapan penulis karya ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 27 September 2021

Cindy Lukyta Ratih Riyanto

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian	3
1.3 Kerangka Teoritis	3
1.4 Hipotesis	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Bahan bakar Hidrokarbon	6
2.2 Solar	6
2.3 Biosurfaktan dan Mikroba Penghasil Biosurfaktan	7
2.4 <i>Serratia marcescens</i>	7
2.4.1 Morfologi <i>Serratia marcescens</i>	7
2.4.2 Kemampuan Biokimia <i>Serratia marcescens</i>	8
2.4.3 Klasifikasi <i>Serratia marcescens</i>	8
2.5 Mekanisme Kerja Biosurfaktan.....	8
2.6 Produksi Biosurfaktan.....	11
2.7 Limbah Cair Jagung	12
2.8 Limbah Cair Singkong	12
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Rancangan Percobaan	13
3.4 Prosedur Penelitian.....	15
3.4.1 Subkultur <i>Serratia marcescens</i> strain MBC1	15
3.4.2 Pembuatan Starter	15
3.4.3 Pembuatan Media Produksi.....	15
3.4.4 Produksi Biosurfaktan di Berbagai Media Produksi.....	16

3.4.5 Pemanenan <i>Crude</i> Biosurfaktan Dari Berbagai Media Produksi	16
3.4.6 Pengujian Aktivitas Biosurfaktan	16
3.4.7 Perhitungan Biomassa.....	19
3.5 Diagram Alir.....	20

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil.....	21
4.2 Pembahasan	29
4.2.1 Pengujian <i>Drop Collapse</i>	29
4.2.2 Pengujian <i>Oil Displacement</i>	30
4.2.3 Pengujian Emulsifikasi	32
4.2.4 Biosurfaktan dan Faktor Pengaruh Produksi Biosurfaktan	34
4.2.5 Pengaruh Jenis Media Produksi Terhadap Produksi Biosurfaktan	34
4.2.6 Pengaruh Kondisi pH Terhadap Produksi Biosurfaktan.....	35
4.2.7 Hubungan Antara Pertumbuhan Bakteri dengan Produksi Biosurfaktan	37

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan.....	40
5.2 Saran	40

DAFTAR PUSTAKA	41
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	45
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Bentuk droplet hasil pengujian <i>drop collapse</i>	21
Tabel 2. Diameter zona jernih yang dihasilkan dari pengujian <i>oil displacement</i> ..	22
Tabel 3. Hasil nilai Chi-square hitung uji analisis non parametrik Friedman dari data pengujian <i>Oil Displacement</i>	23
Tabel 4. Indeks emulsifikasi yang dihasilkan dari pengujian emulsifikasi.....	25
Tabel 5. Hasil nilai Chi-Square hitung uji analisis Friedman dari data pengujian emulsifikasi	26
Tabel 6. Berat kering pelet dengan inokulasi dan tanpa inokulasi starter dari berbagai media dengan variasi pH.....	28
Tabel 7. Hasil analisis korelasi antara jumlah biomassa dengan indeks emulsifikasi yang dihasilkan	28
Tabel 8. Bentuk droplet atau tetesan pada pengujian <i>drop collapse</i> oleh supernatan yang dihasilkan dari berbagai jenis media produksi dan variasi pH	46
Tabel 9. Diameter zona yang terbentuk pada pengujian <i>oil displacement</i> oleh supernatan dari berbagai jenis media produksi dan variasi pH.....	47
Tabel 10. Diameter zona yang terbentuk pada pengujian <i>oil displacement</i> dari berbagai jenis media produksi dengan variasi pH tanpa inokulasi starter.....	48
Tabel 11. Indeks emulsifikasi pada pengujian emulsifikasi oleh supernatan dari berbagai jenis media produksi dengan variasi pH.....	48
Tabel 12. Indeks emulsifikasi pada pengujian emulsifikasi dari berbagai jenis media produksi dengan variasi pH tanpa inokulasi starter.....	49
Tabel 13. Hasil penimbangan berat kering dari pelet yang dihasilkan dari	

berbagai jenis media produksi dengan variasi pH pada pengujian biomassa dengan inokulasi starter.....	50
Tabel 14. Hasil penimbangan berat kering dari pelet yang dihasilkan dari berbagai jenis media produksi dengan variasi pH pada pengujian biomassa tanpa inokulasi starter	51
Tabel 15. Tabel beda nyata antar jenis media produksi pada pengujian <i>oil displacement</i>	52
Tabel 16. Tabel beda nyata antar variasi pH pada pengujian <i>oil displacement</i> ...	53
Tabel 17. Tabel beda nyata antar jenis media produksi dari data pengujian emulsifikasi	54
Tabel 18. Tabel beda nyata antar jenis ph produksi dari data pengujian emulsifikasi	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur Molekul Serrawettin (Lindum, <i>et al.</i> 1998)	9
Gambar 2. Ilustrasi mekanisme kerja biosurfaktan pada pengujian <i>drop collapse</i>	9
Gambar 3. Ilustrasi mekanisme kerja biosurfaktan pada pengujian emulsifikasi	10
Gambar 4. Skema metabolisme sel dalam proses sintesis biosurfaktan	11
Gambar 6. Droplet yang terbentuk pada uji <i>drop collapse</i>	22
Gambar 7. Pembentukan zona jernih pada uji <i>oil displacement</i>	25
Gambar 8. Emulsi yang terbentuk pada uji emulsifikasi	27
Gambar 9. Grafik regresi standardized residual dari hubungan jumlah Biomassa dengan indeks emulsifikasi.....	38
Gambar 10. Pengujian <i>drop collapse</i> oleh supernatan dari media <i>Tryptone Water</i> dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	56
Gambar 11. Pengujian <i>drop collapse</i> oleh supernatan dari media <i>Tryptone Water</i> tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	57
Gambar 12. Pengujian <i>drop collapse</i> oleh supernatan dari media limbah cair jagung dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	57
Gambar 13. Pengujian <i>drop collapse</i> oleh supernatan dari media limbah cair jagung tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	58
Gambar 14. Pengujian <i>drop collapse</i> oleh supernatan dari media limbah cair singkong dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan....	58

Gambar 15. Pengujian <i>drop collapse</i> oleh supernatan dari media limbah cair singkong tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	59
Gambar 16. Pengujian <i>oil displacement</i> oleh supernatan dari media <i>Tryptone Water</i> dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan.....	60
Gambar 17. Pengujian <i>oil displacement</i> oleh supernatan dari media <i>Tryptone Water</i> tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	61
Gambar 18. Pengujian <i>oil displacement</i> oleh supernatan dari media limbah cair jagung dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	62
Gambar 19. Pengujian <i>oil displacement</i> oleh supernatan dari media limbah cair jagung tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	63
Gambar 20. Pengujian <i>oil displacement</i> oleh supernatan dari media limbah cair singkong dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	64
Gambar 21. Pengujian <i>oil displacement</i> oleh supernatan dari media limbah cair singkong tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	65
Gambar 22. Pengujian emulsifikasi oleh supernatan dari media <i>Tryptone Water</i> dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	65
Gambar 23. Pengujian emulsifikasi oleh supernatan dari media <i>Tryptone Water</i> tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	65
Gambar 24. Pengujian emulsifikasi oleh supernatan dari media limbah cair jagung dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	66
Gambar 25. Pengujian emulsifikasi oleh supernatan dari media limbah cair jagung tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	66
Gambar 26. Pengujian emulsifikasi oleh supernatan dari media limbah cair singkong dengan variasi pH 6, 7, dan 8 sebanyak 3 kali ulangan	66
Gambar 27. Pengujian emulsifikasi oleh supernatan dari media limbah cair	

singkong tanpa inokulasi starter dengan variasi pH 6, 7, dan 8
sebanyak 3 kali ulangan68

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang dan Masalah

Beberapa contoh penyebab permasalahan lingkungan akibat solar adalah kebocoran pada pipa Pertamina di Cilacap Jawa Tengah pada Oktober 2019 (Zain, 2019), patahnya pipa solar di Teluk Balikpapan (Affan, 2018), dan ceceran solar akibat kebocoran kapal tanker di Makassar Sulawesi Selatan (Hasrul, 2019). Solar memiliki toksisitas yang tinggi karena mengandung lebih dari 300 jenis hidrokarbon. Akumulasi cemaran solar dalam jumlah berlebih dan waktu yang lama akan mencemari air tanah. Selain itu, cemaran solar menjadikan tanah mudah terbakar dan membuat organisme di habitat tersebut mati (Jagtap *et al.*, 2014).

Upaya penanganan cemaran dari tumpahan solar telah banyak ditempuh dengan pengaplikasian metode kimia, salah satunya dilakukan oleh Bajagain *et al.* (2018) menggunakan natrium persulfat dan hidrogen peroksida sebagai bioremediasi *pretreatment* untuk lingkungan yang tercemar. Penanggulangan dengan metode tersebut mampu mendapatkan hasil dengan cepat, namun juga memiliki kekurangan antara lain biaya yang mahal, tingkat toksisitas yang tinggi, dan menurunnya berbagai jenis mikroba di area tersebut akibat oksidasi dan resistensi senyawa kimia yang sulit dipecah secara biologis, sehingga memungkinkan terjadinya pencemaran baru (Yasmin dan Ria, 2018).

Adanya kekurangan yang ditimbulkan akibat pengendalian dengan metode kimia menjadikan cara tersebut kurang efektif dalam menanggulangi permasalahan ini. Upaya lain dapat dilakukan dengan teknik bioremediasi. Menurut Abatenh *et al.* (2017), bioremediasi dilakukan menggunakan

senyawa biosurfaktan. Biosurfaktan adalah senyawa hasil metabolit sekunder yang bersifat amfifatik atau memiliki dua kepolaran berbeda sekaligus yaitu gugus hidrofilik dan hidrofobik. Karena sifat amfifatik tersebut, maka biosurfaktan digunakan dalam upaya bioremediasi lingkungan yang tercemar hidrokarbon.

Biosurfaktan bekerja melarutkan hidrokarbon dengan cara mengikat bagian air dan minyak sekaligus. Gugus hidrofilik biosurfaktan berupa peptide yang terdiri atas tujuh macam asam amino akan mengikat air, sedangkan gugus hidrofobik biosurfaktan berupa lipid yang terdiri atas 13 atom karbon akan mengikat hidrokarbon. Akibat pengikatan dua bagian sekaligus maka air dan hidrokarbon dapat bersatu dan membentuk misel atau emulsi yang lebih mudah larut, serta dapat digunakan oleh bakteri sebagai sumber karbon bagi pertumbuhannya (Reningtyas, 2015).

Aktivitas biosurfaktan dapat dilihat dengan 3 parameter uji yaitu perubahan bentuk droplet dari cembung menjadi datar akibat penurunan tegangan permukaan pada uji *drop collapse*, terbentuknya zona jernih akibat penyisihan minyak oleh biosurfaktan pada uji *oil displacement*, dan terbentuknya emulsi akibat air dan minyak menyatu setelah penambahan biosurfaktan pada uji emulsifikasi.

Beberapa penelitian menggunakan genus *Serratia* sebagai agen bioremediasi. Genus ini digunakan karena mampu mensintesis metabolit sekunder berupa senyawa serrawettin yang memiliki kemampuan dalam melarutkan hidrokarbon. Menurut hasil penelitian Huang, *et al.* (2020), *Serratia marcescens* memiliki kemampuan melarutkan lumpur minyak cukup baik dengan indeks emulsifikasi sebesar 65,57% pada pH 7. Wongso, *et al.* (2004) melaporkan bahwa *Serratia marcescens* memiliki kemampuan mengemulsi minyak diesel dengan indeks emulsifikasi sebesar 67% pada pH 7. Hasil tersebut didukung oleh hasil penelitian lain yang dilakukan oleh Borah, *et al.* (2018) yang juga menguji kemampuan *Serratia marcescens*

dalam melarutkan minyak diesel dan menghasilkan indeks emulsifikasi sebesar 60% pada pH 7.

Aktivitas biosurfaktan dipengaruhi oleh pertumbuhan mikroba. Semakin banyak jumlah sel mikroba, maka aktivitas biosurfaktan yang dihasilkan juga semakin baik. Beberapa faktor yang dapat meningkatkan pertumbuhan mikroba adalah jenis substrat dan pH. Substrat dan pH yang sesuai menyebabkan mikroba tumbuh optimal dan menghasilkan biosurfaktan yang maksimal. Oleh karena itu dilakukan penelitian ini untuk mengetahui apakah bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 koleksi Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung yang diproduksi pada tiga jenis media produksi dengan variasi pH 6, 7, dan 8 memiliki kemampuan melarutkan hidrokarbon minyak solar lebih baik dari penelitian-penelitian sebelumnya.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut

1. Mengetahui aktivitas biosurfaktan bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 yang ditumbuhkan pada berbagai media dan variasi pH terhadap kelarutan solar
2. Mengetahui media produksi terbaik dan pengaruhnya terhadap aktivitas biosurfaktan dalam melarutkan solar
3. Mengetahui pH media terbaik dan pengaruhnya terhadap aktivitas biosurfaktan dalam melarutkan solar
4. Mengetahui jumlah biomassa *Serratia marcescens* strain MBC1 tertinggi dan pengaruhnya terhadap aktivitas biosurfaktan dalam melarutkan solar

1.3. Kerangka Teoritis

Serratia marcescens strain MBC1 mampu menghasilkan biosurfaktan berupa serrawettin. Serrawettin yang diproduksi bergantung pada kemampuan pertumbuhan bakteri.

Pada umumnya, pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh jenis substrat atau media dan kondisi pH lingkungan tumbuhnya. Dalam pertumbuhannya,

bakteri membutuhkan sumber karbon sebagai energi untuk pertumbuhan dan asimilasi metabolit sekunder. Produksi biosurfaktan termasuk asimilasi metabolit sekunder. Sumber karbon yang dibutuhkan untuk sintesis biosurfaktan adalah karbohidrat, hidrokarbon, dan lipid. Nitrogen yang cukup juga diperlukan untuk menjaga pertumbuhan bakteri tetap baik.

Kebutuhan karbon dan nitrogen dapat diperoleh dari berbagai sumber, diantaranya media *Tryptone Water*, limbah cair jagung dan limbah cair singkong. *Tryptone Water* mengandung 10 g/L protein, namun tidak terdapat sumber karbon di dalamnya. Dalam 100 g jagung kandungan protein sebesar 3,4 g dengan lemak sebagai sumber karbon sebanyak 1,5 gram. Pada 100 g singkong kandungan protein hanya 1,0 g sedangkan sumber karbon berupa lemak sebanyak 1,5 gram (Direktorat Gizi Depkes RI, 1981). Persentase kandungan media berpengaruh terhadap pertumbuhan sel bakteri. Semakin lengkap kandungan pada substrat, maka pertumbuhan akan meningkat. Peningkatan pertumbuhan berpengaruh pada kenaikan jumlah sel yang mensintesis metabolit sekunder berupa biosurfaktan. Semakin banyak biosurfaktan yang diproduksi, maka semakin baik pula aktivitasnya dalam melarutkan hidrokarbon.

Selain jenis substrat, kondisi pH yang sesuai membuat mikroba dapat tumbuh dengan optimal dan menghasilkan produk metabolit sekunder yang maksimal. Umumnya *Serratia marcescens* dapat tumbuh pada rentang pH 5-9. Kondisi pH yang terlalu asam atau basa berpengaruh terhadap pertumbuhan sel. Pada sel akan terjadi penghambatan aktivitas karena membran sel jenuh oleh ion hidrogen sehingga menghambat transport membran. Pada proses ini akan terjadi penyesuaian pH antara sel dengan kondisi lingkungan yang menyebabkan pH sel berubah. Perubahan ini menyebabkan pertumbuhan sel terhambat, sehingga jumlah sel yang memproduksi biosurfaktan sedikit dan menyebabkan aktivitas biosurfaktan dalam melarutkan hidrokarbon tidak maksimal.

1.4. Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini antara lain sebagai berikut:

1. Isolat bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 menunjukkan aktivitas melarutkan solar
2. Komposisi media produksi mampu meningkatkan aktivitas biosurfaktan dalam melarutkan solar
3. Aktivitas biosurfaktan dalam melarutkan solar paling baik terbentuk pada pH 7
4. Peningkatan biomassa bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 mampu meningkatkan aktivitas biosurfaktan dalam melarutkan solar

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bahan Bakar Hidrokarbon

Bahan bakar merupakan materi yang bisa diubah bentuk menjadi energi. Bahan bakar umumnya terdiri dari unsur karbon (C) dan hidrogen (H) yang disebut dengan bahan bakar hidrokarbon. Senyawa hidrokarbon memiliki peran penting dalam menghasilkan energi. Bahan bakar ini berpotensi menjadi zat pencemar karena sifatnya yang mudah menguap dan bereaksi dengan oksigen, sehingga menyebabkan terjadinya reaksi pembakaran yang menyebabkan hidrokarbon mudah terbakar dan tergolong sebagai bahan B3. Bahan bakar hidrokarbon umumnya mencemari air tanah terutama yang lokasinya dekat dengan stasiun pengisian bahan bakar. Selain itu, tanaman dapat mati akibat tanah yang tercemar bahan bakar.

Sa'diyah dan Sri (2015) melaporkan bahwa kandungan paling banyak pada hidrokarbon adalah gugus aromatik. Persentase gugus aromatik yang terlalu tinggi akan menghasilkan asap buangan setelah pembakaran. Asap ini berbahaya bila masuk ke dalam saluran pernafasan, selain itu dapat pula menyebabkan iritasi pada bagian tubuh lainnya.

2.2. Solar

Solar adalah salah satu bahan bakar hidrokarbon, berwarna kuning jernih dengan titik didih 175-370°C, oleh karena itu solar tidak mudah menguap pada temperatur normal. Menurut Nurtanto (2017), solar cocok digunakan sebagai bahan bakar mesin putaran tinggi karena memiliki titik nyala yang rendah yaitu 75.0°C, semakin rendah titik nyala suatu bahan bakar, maka semakin lama penguapan dan proses pembakarannya. Solar digunakan

sebagai bahan bakar karena memiliki kalor yang cukup tinggi (Manalu *et al.*, 2015). Penggunaan solar sebagai bahan bakar mesin putaran tinggi, membuat solar memiliki kecenderungan dalam mengendapkan sisa pembakaran, salah satunya adalah karbon. Sisa pembakaran ini disebut dengan gas buang. Menurut Abryandoko (2014), penggunaan bahan bakar solar dapat menjadi cemaran di lingkungan karena gas buang tersebut terdiri atas partikel-partikel berbahaya. Tumpahan solar pada tanah akan mengakibatkan perubahan struktur tanah dan kematian mikroba yang tidak mampu beradaptasi terhadap kondisi lingkungan baru akibat pencemaran.

2.3. Biosurfaktan dan Mikroba Penghasil Biosurfaktan

Mikroba digunakan dalam teknik bioremediasi karena mampu menghasilkan surfaktan hasil dari metabolit sekunder yang disebut dengan biosurfaktan. Biosurfaktan merupakan salah satu senyawa hasil sekresi mikroba yang jika dikeluarkan dari dalam sel mengakibatkan terjadinya proses degradasi senyawa hidrokarbon menjadi sumber karbon dan energi bagi mikroba tersebut. Biosurfaktan digunakan dalam upaya bioremediasi lingkungan yang terkontaminasi senyawa hidrokarbon. Biosurfaktan banyak digunakan karena tidak membahayakan keseimbangan ekosistem, memiliki toksisitas yang rendah, dan efektif bekerja diberbagai kondisi lingkungan. Biosurfaktan menggunakan mikroba sebagai agen bioremediasi karena mampu menggunakan substrat minyak sebagai sumber karbon (Lee *et al.*, 2018). Beberapa mikroba penghasil biosurfaktan berasal dari genus *Serratia* yang mampu menghasilkan biosurfaktan berupa serrawettin, dan genus *Pseudomonas* yang menghasilkan biosurfaktan berupa rhamnolipid.

2.4. *Serratia marcescens*

2.4.1. Morfologi *Serratia marcescens*

Rukmana dan Utami (2019) memaparkan hasil pengamatannya bahwa ciri-ciri koloni *Serratia marcescens* berbentuk bulat dan memproduksi pigmen berwarna merah pada Media Endo Agar.

Setelah dilakukan pengamatan makroskopis dengan pengecatan gram, *Serratia marcescens* menunjukkan gram negatif, berwarna merah, dan berbentuk batang.

2.4.2. Kemampuan Biokimia *Serratia marcescens*

Genus *Serratia* mampu memproduksi beberapa jenis karbohidrat yaitu glukosa, fruktosa, manitol, galaktosa, maltosa, manitol serta mampu memproduksi semua jenis asam amino (Priyatno *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil identifikasi lain yang dilakukan oleh Behera *et al.* (2017), *Serratia marcescens* menunjukkan hasil positif terhadap uji katalase, urea, dan VP, namun menunjukkan hasil negatif terhadap uji oksidase, reduksi sitrat, reduksi *methyl-red*, dan reduksi nitrat.

Abdullah *et al.* (2017) melaporkan bahwa *Serratia marcescens* non fermentor terhadap laktosa, menunjukkan hasil positif pada uji motilitas, dan urea.

2.4.3. Klasifikasi *Serratia marcescens*

Klasifikasi ilmiah *Serratia marcescens* sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Proteobacteria

Class : Gamma Proteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Yersiniaceae

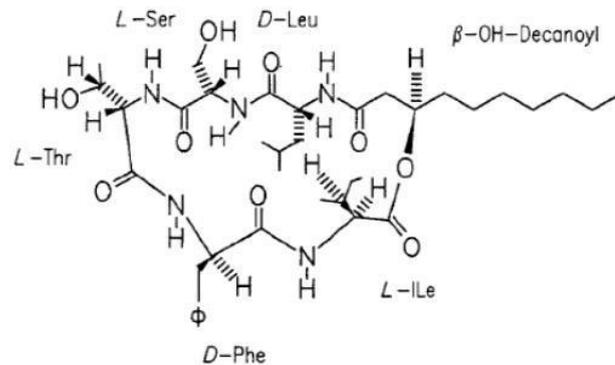
Genus : *Serratia*

Spesies : *Serratia marcescens*

2.5. Mekanisme Kerja Biosurfaktan

Biosurfaktan adalah hasil metabolit sekunder dari mikroba. Biosurfaktan memungkinkan mikroba untuk hidup beradaptasi di lingkungan tercemar hidrokarbon dengan cara memberi sinyal kepada sistem metabolisme untuk menghasilkan enzim tertentu yang dapat menguraikan senyawa hidrokarbon,

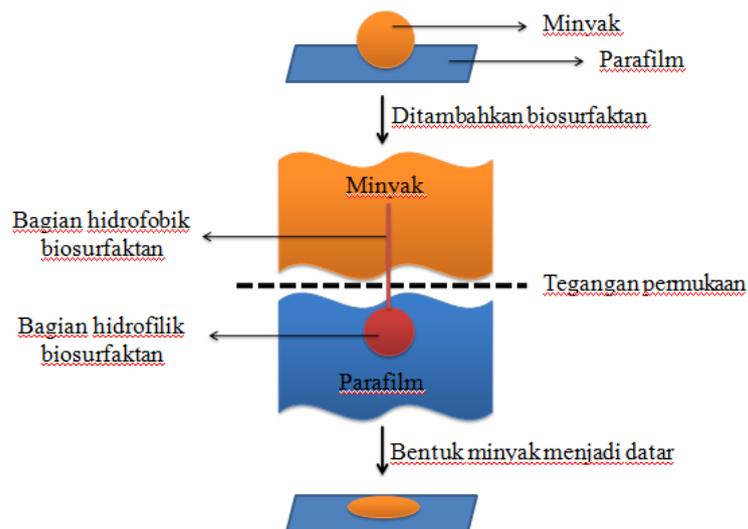
sehingga mikroba tetap dapat melangsungkan perkembangbiakan sel (Reningtyas and Mahreni, 2015).



Gambar 1. Struktur molekul Serrawettin (Lindum, *et al.* 1998)

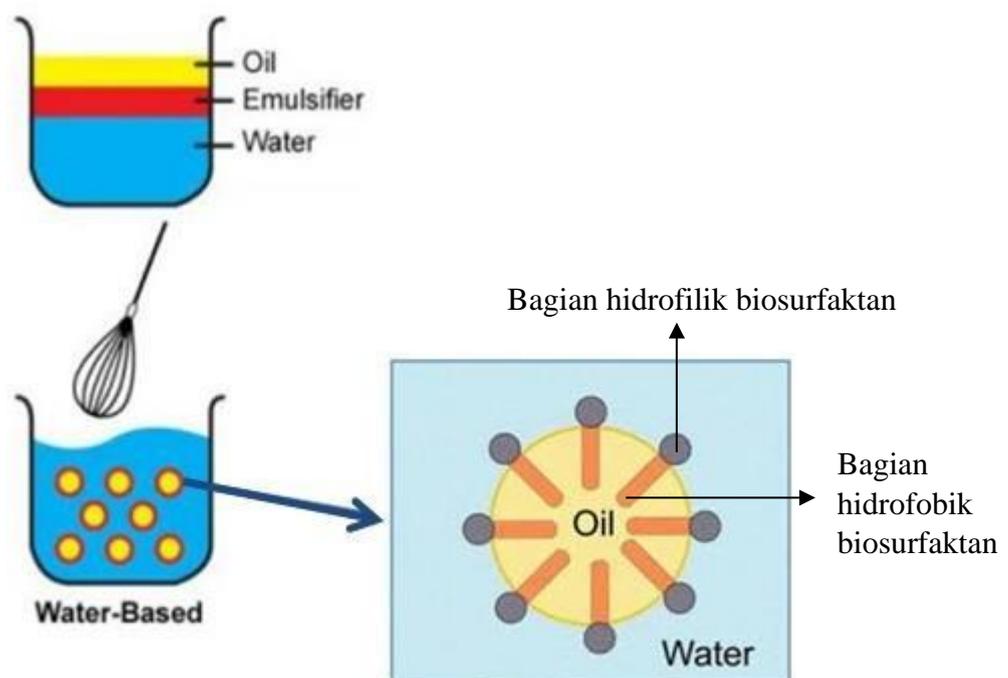
Serratia marcescens mampu mensintesis biosurfaktan jenis lipopeptida yaitu senyawa serrawettin. Serrawettin terdiri atas gugus amina dan lipid. Senyawa ini mampu melarutkan hidrokarbon dengan memutus ikatan ester pada hidrokarbon sehingga menjadi rantai karbon yang lebih pendek.

Aktivitas biosurfaktan diketahui berdasarkan pengujian *drop collapse*, *oil displacement*, dan emulsifikasi. Pada pengujian *drop collapse*, mekanisme kerja biosurfaktan dalam melarutkan solar dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Ilustrasi mekanisme kerja biosurfaktan pada pengujian *drop collapse*

Pengujian ini menggunakan parafilm dengan permukaan hidrofilik, kemudian ditetaskan minyak yang bersifat hidrofobik di atas parafilm tersebut. Setelah itu, di atas permukaan minyak ditetesi biosurfaktan yang bersifat amfipatik. Bagian kepala biosurfaktan yang bersifat hidrofilik menyatu dengan permukaan parafilm, sedangkan bagian ekor biosurfaktan yang bersifat hidrofobik menyatu dengan permukaan minyak. Hal ini terjadi karena adanya penurunan tegangan permukaan akibat penambahan biosurfaktan. Turunnya tegangan permukaan mengakibatkan perubahan bentuk droplet dari cembung menjadi datar. Pengujian ketiga adalah uji emulsifikasi, mekanisme kerja biosurfaktan dalam melarutkan solar pada pengujian ini dapat dilihat pada Gambar 3 berikut.



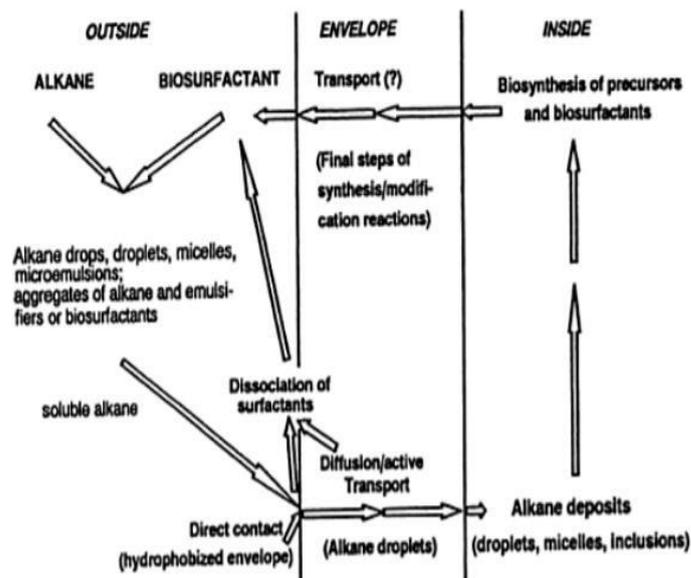
Gambar 3. Ilustrasi mekanisme kerja biosurfaktan pada pengujian emulsifikasi

Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan biosurfaktan ke dalam cairan yang tidak dapat menyatu contohnya air dengan minyak. Setelah dilakukan penambahan biosurfaktan ke dalam dua jenis cairan tersebut, dilakukan homogenasi menggunakan *vortex mixer*. Bagian kepala biosurfaktan

menyatu dengan bagian hidrofilik air, sedangkan bagian ekor biosurfaktan menyatu dengan bagian hidrofobik minyak. Akibat dari ikatan yang dibentuk oleh supernatan, air dapat menyatu dengan minyak sehingga terbentuk misel atau disebut dengan emulsi di antara lapisan air dan minyak.

2.6. Produksi Biosurfaktan

Biosurfaktan dapat dihasilkan dari mikroorganisme dengan cara diproduksi menggunakan media yang mengandung nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Naibaho *et al* (2020) menggunakan media Bushnel Haas sebagai media produksi, hal ini karena media tersebut mengandung nutrisi seperti magnesium sulfat, kalsium klorida, dan amonium nitrat yang berfungsi memacu pertumbuhan bakteri. Beberapa penelitian lain menggunakan media produksi *Nutrient Broth*, salah satunya penelitian Setiani, *et al* (2020). Media lain dapat digunakan menyesuaikan kebutuhan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri. Penggunaan media alternatif dapat digunakan apabila ingin menekan biaya produksi yang tinggi. Rodriguez, *et al* (2015) menggunakan *low cost medium* dalam produksi biosurfaktan yaitu limbah cair singkong dan jagung. Hal ini dilakukan karena dalam limbah tersebut masih terdapat nutrisi yang dapat memacu pertumbuhan bakteri.



Gambar 4. Skema metabolisme sel dalam proses sintesis biosurfaktan

Sintesis biosurfaktan diawali dengan senyawa biosurfaktataben yang dikeluarkan oleh bakteri untuk memecah substrat di luar sel, contohnya rantai karbon alkana dengan cara menurunkan tegangan permukaan alkana. Penurunan tegangan permukaan tersebut menyebabkan alkana teremulsi membentuk misel, mikroemulsi, atau agregat. Alkana yang teremulsi larut dalam air sehingga dapat terdifusi ke dalam dinding sel yang bersifat hidrofobik maupun hidrofilik. Deposit alkana melalui serangkaian proses bioreaksi di dalam sel yang dikatalisis oleh enzim-enzim intraseluler sehingga masuk ke siklus metabolisme sel. Hasil metabolisme membentuk produk intraseluler sehingga perkembangbiakan sel dapat terus berlangsung. Selain itu, terbentuk pula produk metabolit sekunder berupa biosurfaktan. Produk biosurfaktan yang dihasilkan akan disekresikan kembali untuk memecah rantai karbon lain di luar sel sebagai emulsifier, sehingga substrat dapat teremulsi dan mudah larut dalam air (Kosaric dan Sukan, 1993).

2.7. Limbah Cair Jagung

Berbagai macam olahan pangan dari jagung menyebabkan banyaknya limbah cair yang dihasilkan. Beberapa penelitian menggunakan limbah cair jagung sebagai media tumbuh mikroorganisme, salah satunya Furqani (2018) yang menggunakan limbah cair jagung sebagai substrat pertumbuhan bakteri karena karbohidrat, mineral, dan fosfat yang terkandung di dalamnya cukup banyak. Senyawa tersebut dapat digunakan oleh mikroba untuk pertumbuhannya.

2.8. Limbah Cair Singkong

Limbah cair singkong yang dihasilkan dari air rebusan singkong dapat digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri, karena di dalamnya masih mengandung senyawa organik yang dapat dimanfaatkan oleh mikroba antara lain karbohidrat, nitrogen, mineral, dan fosfat. Selain itu, jumlahnya yang banyak dan mudah ditemui menjadikan limbah tersebut cocok digunakan sebagai media alternatif produksi biosurfaktan (Suryanti, 2014).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada bulan Februari sampai April 2021.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain jarum ose, bunsen, cawan Petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, *beaker glass*, gelas ukur, gelas objek, rak tabung, pipet tetes, pipet volumetri, *bulb*, *hotplate*, oven, *autoclave*, *vortex*, *magnetic stirrer*, mikroskop, kulkas, *biosafety cabinet*, *shaking incubator*, neraca digital, spatula, sentrifuse, tabung sentrifuse, pH meter dan jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Trypton Soya Agar* (TSA), *Tryptone Water* (TW), spirtus, alkohol 70%, akuades, plastik *wrap*, korek api, tisu, karet, plastik tahan panas, *Tween 80*, sukrosa, NaCl, kasa, kapas, tali kasur, limbah singkong, limbah jagung, standar *McFarland*, HCl, NaOH, dan solar.

3.3. Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan 3 parameter uji. Pengujian *drop collapse* digunakan untuk mengetahui kemampuan biosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan. Parameter dari pengujian ini adalah perubahan bentuk droplet dari cembung menjadi datar setelah penambahan supernatan. Pengujian *oil displacement* dilakukan untuk

mengetahui kemampuan biosurfaktan dalam menyisihkan minyak. Parameter dari pengujian ini adalah terbentuknya zona jernih pada minyak setelah penambahan supernatan. Pengujian emulsifikasi dilakukan untuk mengetahui persentase kemampuan biosurfaktan dalam mengemulsikan minyak. Parameter dari pengujian ini adalah pembentukan emulsi setelah penambahan supernatan. Penelitian ini menggunakan surfaktan sintetik *Tween* 80 sebagai kontrol positif dan akuades sebagai kontrol negatif. Selain uji aktivitas biosurfaktan, dilakukan juga perhitungan biomassa. Perhitungan biomassa dilakukan dengan menghitung berat kering dari pelet yang dihasilkan.

Rancangan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 11 perlakuan masing-masing 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Two Way Anova*. Jika setelah dilakukan analisis data tidak memenuhi asumsi pengujian *Two Way Anova* yaitu data tidak homogen dan tidak berdistribusi normal, maka pengujian alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan uji non parametrik Friedman. Analisis tersebut dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi pH dan jenis media produksi terhadap kemampuan biosurfaktan yang dihasilkan dalam melarutkan solar. Adapun rincian perlakuan pada penelitian ini sebagai berikut:

K+ (Kontrol Positif) : *Tween* 80 (surfaktan sintesis)

K- (Kontrol Negatif) : Akuades

TA6 : *Tryptone Water* + starter *Serratia marcescens* variasi pH 6

TA7 : *Tryptone Water* + starter *Serratia marcescens* variasi pH 7

TA8 : *Tryptone Water* + starter *Serratia marcescens* variasi pH 8

TO6 : *Tryptone Water* tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 6

TO7 : *Tryptone Water* tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 7

TO8 : *Tryptone Water* tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 8

JA6 : Limbah Jagung + starter *Serratia marcescens* variasi pH 6

JA7 : Limbah Jagung + starter *Serratia marcescens* variasi pH 7

JA8 : Limbah Jagung + starter *Serratia marcescens* variasi pH 8

- JO6 : Limbah Jagung tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 6
JO7 : Limbah Jagung tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 7
JO8 : Limbah Jagung tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 8
SA6 : Limbah Singkong + starter *Serratia marcescens* variasi pH 6
SA7 : Limbah Singkong + starter *Serratia marcescens* variasi pH 7
SA8 : Limbah Singkong + starter *Serratia marcescens* variasi pH 8
SO6 : Limbah Singkong tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 6
SO7 : Limbah Singkong tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 7
SO8 : Limbah Singkong tanpa starter *Serratia marcescens* variasi pH 8

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Subkultur *Serratia marcescens* strain MBC1

Subkultur isolat bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 dilakukan dengan metode *streak* pada media *Tryptone Soya Agar* (yang terdiri atas *casein*, *soy peptone*, natrium klorida, agar, dan air) steril secara aseptis. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada suhu ruang.

3.4.2. Pembuatan Starter

Pembuatan starter dilakukan dengan menginokulasikan 5 mL inokulum bakteri dengan kerapatan sel 10^8 sel/mL ke dalam 100 mL media *Tryptone Water* (TW) steril dalam *Erlenmeyer* berukuran 250 mL. Inkubasi dilakukan selama 24 jam pada *incubator shaker*.

3.4.3. Pembuatan Media Produksi

Media produksi yang digunakan antara lain *Tryptone Water*, limbah cair singkong dan limbah cair jagung. Komposisi media *Tryptone Water* terdiri atas *casein* dan *sodium chloride*. Media ini dibuat dengan melarutkan 15 g bubuk media ke dalam 1000 mL akuades. Media limbah cair singkong dan jagung didapatkan dari pabrik pengolahan singkong dan jagung di Pesawaran, Lampung yang kemudian dilakukan penambahan sukrosa dan NaCl masing-

masing sebanyak 0,5% serta diatur variasi pH menjadi 6, 7, dan 8. Masing-masing media produksi dituangkan sebanyak 40 mL ke dalam Erlenmeyer berukuran 100 mL berdasarkan variasi pH dan media. Selain itu, dilakukan perlakuan yang sama pada media produksi *Tryptone Water* (TW), limbah jagung, dan limbah singkong namun tanpa diinokulasi starter. Perlakuan ini digunakan sebagai pembanding. Semua media disterilisasi menggunakan *autoclave* selama 15 menit dengan tekanan 2 atm dengan suhu 121°C.

3.4.4. Produksi Biosurfaktan di Berbagai Media Produksi

Starter yang telah diinkubasi selama 24 jam ditambahkan sebanyak 1 mL ke dalam 40 mL masing-masing media produksi. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada *incubator shaker*. Perlakuan yang sama dilakukan juga pada media yang tidak ditambahkan starter.

3.4.5. Pemanenan *Crude* Biosurfaktan dari Berbagai Media Produksi

Hasil produksi yang telah diinkubasi selama 7 hari dimasukkan ke dalam botol vial dan disentrifuse selama 30 menit dengan kecepatan 6000 rpm. Perlakuan yang sama dilakukan pada media produksi tanpa inokulasi starter yang telah diinkubasi. Supernatan yang dihasilkan dipisahkan dari pelet untuk selanjutnya digunakan pada pengujian aktivitas biosurfaktan, sedangkan pelet dipisahkan untuk dihitung biomasanya.

3.4.6. Pengujian Aktivitas Biosurfaktan

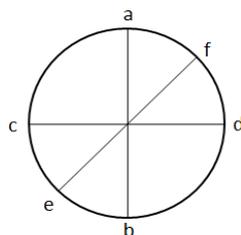
A. Uji Drop Collapse

Pengujian *drop collapse* dilakukan berdasar metode (Walter, Syldatk dan Hausmann, 2010). Pengujian ini dilakukan dengan meneteskan sebanyak 20 µL solar di atas kaca objek. Solar tersebut didiamkan selama 1 jam agar stabil. Setelah itu, ditambahkan 10 µL supernatan di atasnya. Kemudian dilakukan pengamatan bentuk droplet atau tetesan. Perlakuan

yang sama dilakukan pada media produksi tanpa inokulasi starter, kontrol positif dan negatif. *Tween* 80 digunakan sebagai pengganti supernatan pada kontrol positif, sedangkan akuades digunakan sebagai pengganti supernatan pada kontrol negatif. Pada perlakuan ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Jika supernatan memproduksi biosurfaktan maka lapisan permukaan yang terbentuk adalah *flat* atau datar, namun jika bentuk lapisan *rounded* atau cembung, maka supernatan tidak memproduksi biosurfaktan.

B. Uji *Oil Displacement*

Pengujian ini dilakukan berdasar metode (Walter, Syldatk dan Hausmann, 2010) dengan menyiapkan supernatan dari masing-masing media produksi, solar, dan akuades. Sebanyak 20 mL akuades dituang ke dalam cawan Petri, kemudian ditambahkan 20 μ L minyak solar di bagian permukaan. Setelah itu, sebanyak 10 μ L supernatan diteteskan di atas permukaan minyak tersebut. Perlakuan yang sama dilakukan pada media produksi tanpa inokulasi starter, kontrol positif dan negatif. Akuades digunakan sebagai pengganti supernatan pada kontrol negatif, sedangkan *Tween* 80 digunakan sebagai pengganti supernatan pada kontrol positif. Pada perlakuan ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Indikator positif uji *oil displacement* ditandai dengan terbentuknya zona jernih pada permukaan minyak. Jika supernatan mengandung biosurfaktan, maka minyak solar akan terpecah dan menghasilkan zona jernih di permukaan. Jika supernatan tidak mengandung biosurfaktan maka permukaan minyak tidak akan terpecah. Setelah itu dilakukan pengukuran zona jernih yang terbentuk akibat pemecahan minyak. Pengukuran zona jernih dilakukan menggunakan jangka sorong dengan cara seperti Gambar 2 berikut.



Rumus pengukuran zona jernih:

$$\frac{ab + cd + ef}{3}$$

Keterangan:

ab : diameter vertikal zona jernih

cd : diameter horizontal zona jernih

ef : diameter diagonal zona jernih

Gambar 5. Rumus pengukuran zona jernih pada pengujian *oil displacement*

C. Uji Emulsifikasi

Uji emulsifikasi dilakukan berdasarkan metode (Walter, Syldatk dan Hausmann, 2010). Supernatan isolat bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 yang berasal dari produksi berbagai media dicampurkan dengan solar dengan perbandingan 1:1. Sebanyak 2 mL solar dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril, kemudian ditambahkan di dalamnya 2 mL supernatan dari masing-masing media produksi. Campuran larutan tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex* selama 3 menit. Setelah itu, diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang supaya terbentuk emulsi yang stabil. Perlakuan yang sama dilakukan pada media produksi tanpa inokulasi starter, kontrol positif dan negatif. Tween 80 digunakan sebagai pengganti supernatan pada kontrol positif, sedangkan akuades digunakan sebagai pengganti supernatan pada kontrol negatif. Pada perlakuan ini dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Pembentukan emulsi ditandai dengan terbentuknya emulsi di tengah lapisan antara minyak dengan supernatan. Namun, jika supernatan tidak mengandung biosurfaktan maka tidak

terbentuk emulsi di antara lapisan minyak dengan supernatan. Kemudian dilakukan pengukuran tinggi emulsi yang terbentuk. Perhitungan indeks emulsifikasi menggunakan rumus berikut:

$$E24 (\%) = \frac{\text{Tinggi lapisan emulsi}}{\text{Tinggi total lapisan}} \times 100\%$$

Keterangan:

E24: Indeks dihitung setelah 24 jam

3.4.7. Perhitungan Biomassa

Perhitungan biomassa dilakukan untuk mengetahui berat kering dari pelet yang dihasilkan. Pengujian ini berfungsi sebagai perhitungan jumlah sel bakteri secara tidak langsung. Pengujian ini dilakukan dengan memisahkan pelet dari supernatan, kemudian pelet dipindahkan ke dalam aluminium foil berdasarkan jenis media produksi dan variasi pH. Semua pelet dikeringkan di dalam oven dengan suhu 60°C hingga tersisa berat keringnya. Kemudian dilakukan perhitungan selisih berat kering biomassa dari media produksi dengan inokulasi starter bakteri dan tanpa inokulasi starter bakteri. Semakin tinggi berat kering bersih yang dihasilkan semakin banyak jumlah sel bakteri hasil produksi.

Adapun rumus perhitungan biomassa adalah sebagai berikut:

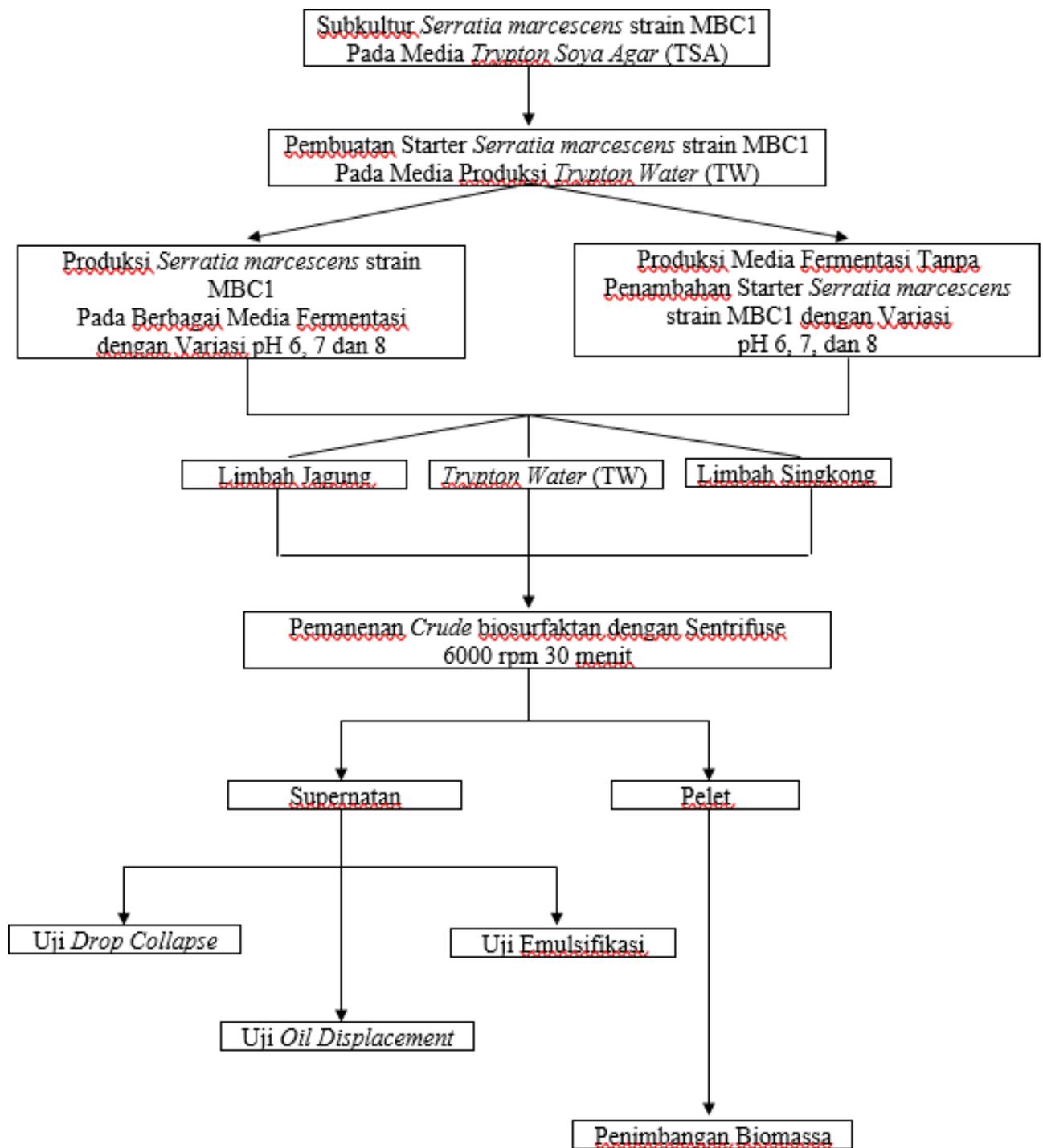
$$X = \frac{\text{Berat foil berisi sel kering atau basah (g)} - \text{berat foil kosong (g)}}{\text{Volume sampel (mL)}} \times 10^3$$

$$X = \text{Berat kering/basah sel (g/L)}$$

$$10^3 = \text{Konversi satuan dari g/L ke mg/L}$$

3.5. Diagram Alir

Pengujian Aktivitas Biosurfaktan



V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan data yang diperoleh, kesimpulan dari penelitian ini sebagai berikut.

1. Biosurfaktan isolat bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 yang dihasilkan dari semua jenis media dan variasi pH menunjukkan kemampuan melarutkan solar, dengan hasil tertinggi yaitu diameter zona jernih sebesar 5,31 cm, indeks emulsifikasi sebesar 63,88% dan semua droplet yang berubah bentuk dari cembung menjadi datar
2. Aktivitas melarutkan solar paling baik terbentuk oleh biosurfaktan yang diproduksi pada media limbah cair jagung
3. Aktivitas melarutkan solar paling baik terbentuk oleh biosurfaktan yang diproduksi pada media dengan pH 7
4. Biomassa tertinggi dihasilkan oleh hasil produksi dari media *Tryptone Water* pH 7 sebesar 0,0110 g/L.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, saran yang dapat dilakukan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut.

1. Dilakukan optimasi limbah cair jagung dan singkong sebagai media produksi untuk meningkatkan pertumbuhan *Serratia marcescens* strain MBC1 dengan perlakuan periode fermentasi serta penambahan berbagai konsentrasi garam
2. Dilakukan pengujian *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS) untuk menganalisis perubahan komponen penyusun solar setelah ditambahkan biosurfaktan dari *Serratia marcescens* strain MBC1.

DAFTAR PUSTAKA

- Abatenh, E., B. Gizau, Z. Tsegaye, dan M. Wassie. 2017. The Role of Microorganisms in Bioremediation-A Review. *Open Journal of Environmental Biology*. Vol 1 (1): 038-046
- Abdullah, A. H., B. N. Nadhom, dan H. H. Al-Ammiri. 2017. Isolation and Identification of *Serratia marcescens* from *Bovine Mastitis* Infections in Iraq and Their Susceptibility to Antibiotics. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. Vol 5(2): 489-492
- Abryandoko, E. W. 2014. Studi Komparasi Emisi Gas Buang Bahan Bakar Solar dan Biodiesel dari Crude Oil Nyamplung dengan Proses Degumming pada Mesin Diesel Nissan D22. *JTM*. Vol 3 (1): 96-105
- Affan, H. 2018. Pencemaran Tumpahan Minyak di Teluk Balikpapan: “Sudah Tiga Hari Kami Mencium Bau Solar”.
<https://www.bbc.com/indonesia/indonesia-43626386>. Diakses pada 09 Januari 2021 pukul 22.48 WIB
- Alami, N.H., Ni'matuzahroh, T. Surtiningsih. 2011. Ekstraksi dan karakteriasi Biosurfaktan *Pseudomonas putida* T1 (8) pada Molase. Berk. Penel. Hayati. Edisi Khusus 4C: 65-71
- Araújo, H. W. C., R. F. S. Andrade, D. M. Rodriguez, D. R. Ribeaux, C. A. A. Silva, dan G. M. C. Takaki. 2019. Sustainable Biosurfactant Produce by *Serratia marcescens* UCP 1549 and its suitability for Agricultural and Marine Bioremediation Application. *Microbial Cell Factories*. Vol 18 (2): 1-13
- Bajagain, R., S. L. Seung, W. Jeong. 2018. Application of Persulfate Oxidation Foam Spraying as a Bioremediation Pretreatment for Diesel Oil Contaminated Soil. *Chemosphere*. Vol 207: 565-572
- Behera, B. C., H. Yadav, S. K. Singh, R. R. Mishra, B. K. Sethi, S. K. Dutta, dan H. N. Thatoi. 2017. Phosphate Solubilization and Acid Phosphate Activity of *Serratia* sp. Isolated from Mangrove Soil of Mahanadi River Delta, Odisha, India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. Vol 15: 169-178

- Borah, D., K. Agarwal, A. Khataniar, D. Konwar, S. B. Gogoi, M. Kallel. 2019. A Newly Isolated strain of *Serratia* sp. from an Oil Spillage Site of Assam Shows Excellent Bioremediation Potential. *3 Biotech*. Vol 9: 283
- Ciccyliana, D. Y., dan R. Nawfa. 2012. Pengaruh pH Terhadap Produksi Biosurfaktan Oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Lokal. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. Vol 1 (1): 1-6
- Cooper, D. D. G dan D. A. Paddock. 1984. Production of a Biosurfactants From *Torulopsis bombicola*. *Applied Environmental Microbiology*. Vol (47): 173-176
- Desniar. 2004. Pemanfaatan Tetes Tebu (Molase) dan Urea Sebagai Sumber Karbon dan Nitrogen dalam Produksi Alginat yang dihasilkan Oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. IPB University. Bogor
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. 1981. *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Penerbit Bhratara Karya Aksara. Jakarta
- Furqani, L., H. 2018. Pemanfaatan Air Rebusan Biji dan Tongkol Jagung Sebagai Substrat Produksi Bakteri *Bacillus pumilus* UAAC 21623 dan Uji Aktivitas Antibakterinya. *Skripsi*. Fakultas Farmasi. Universitas Andalas: Padang.
- Gozan, M., I. N. Fatimah, C. Nanda, dan A. Haris. 2014. Produksi Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi Untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi. *Journal of Agro-based Industry*. Vol 31 (2): 39-44
- Hasrul, A. H. 2019. Peluang limbah Kelapa Sawit Untuk Produksi Polihidroksialnoat Sebagai Bioplastik. *Perspektif*. Vol 19 (2): 79-94
- Huang, Y., H. Zhou, G. Zheng, Y. Li, Q. Xie, S. You, C. Zhang. 2020. Isolation and Characterization of Biosurfactant Producing *Serratia marcescens* ZCF25 from Oil Sludge and Application to Bioremediation. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol 27 (22)
- Jagtap, S. S., S. M. Woo, T. S. Kim, S. S. Dhiman, D. Kim, dan J. K. Lee. 2014. Phytoremediation of Diesel Contaminated Soil and Saccharification of the Resulting Biomass. *Fuel*. Vol 116: 292-298
- Komarawidjaja, W. 2009. Karakteristik dan Pertumbuhan Konsorsium Mikroba Lokal dalam Media Mengandung Minyak Bumi. *Jurnal Teknik Lingkungan*. Vol 10 (1): 114-119
- Kosaric, N., and F. V. Sukan. 1993. *Biosurfactants: Production: Properties: Applications*. Marcel Dekker Inc. New York. ISBN 0-9678550-9- 8.

- Lee, D. W., H. Lee, B. O. Kwon, J. S. Khim, U. H. Yim, B. S. Kim, dan J. J. Kim. 2018. Biosurfactant Assisted Bioremediation of Crude Oil by Indigenous Bacteria Isolated from Tean Beach Sediment. *Environmental Pollution*. Vol 24: 254-264
- Lindum, P. W., U. Anthoni, C. Christophersen, L. Eberl. 1998. N-Acyl-L-Homoserine Lactone Autoinducers Kontrol Production of an Extracellular Lipopeptide Biosurfactant Required for Swarming Motility of *Serratia liquefaciens* MG1. *Journal of Bacteriology*. Vol 180: 6384-6388
- Manalu, P. L., E. Alwi, T. Sugiarto. 2015. Pengaruh Penggunaan Bahan Bakar Alternatif dari Limbah Plastik Hasil dari Pyrolisis triPOD-AP Setara Bensin Terhadap Konsumsi Bahan Bakar dan Kandungan Emisi Gas Buang pada Sepeda Motor 4 Tak. *Automotive Engineering Education Journals*. Vol 1 (2): 1-12
- Naibaho, F. G., N. Priyani, E. Munir, N. S. Damanik. 2020. Isolasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Menggunakan Media yang Mengandung Pestisida Karbosulfan. *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains*. Vol 2 (1): 21-24
- Nurtanto, M. 2017. Karakteristik dan Konsumsi Bahan Bakar Minyak Solar dengan Minyak Kemijen pada Motor Diesel. *Jurnal Muara Sains, Teknologi, Kedokteran, dan Ilmu Kesehatan*. Vol 1(2): 117-124
- Priyatno, T. P., Y. A. Dahliani, Y. Suryadi, I. M. Samudra, D. N. Susilowati, I. Rusmana, B. S. Wibowo, dan C. Irwan. 2011. Identifikasi Entomopatogen Bakteri Merah pada Wereng Batang Coklat (*Nilaparvata legens* Stal). *Jurnal AgroBiogen*. Vol 7 (2): 85-95
- Reningtyas, R. Mahreni. 2015. Biosurfaktan. *Eksergi*. Vol 12 (2): 12-22
- Rodriguez, D. M., R. F. S. Andrade, D. L. R. Ribeiro, D. R. Ribeaux, R. A. Lima, H. W. J. Araujo, dan G. M. C. Takaki. 2015. Bioremediation of Petroleum Derivative Using Biosurfactant Produced by *Serratia marcescens* UCP/WFCC 1549 in Low Cost Medium. *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*. Vol 4 (7): 550-562
- Rukmana, R. M., R. S. Utami. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri *Salmonella* sp. dan *Serratia* sp. pada Eksoskeleton Lalat Hijau (*Chrysomya megacephala*). *Jurnal Biomedika*. Vol 12 (1): 9-18
- Ruzniza. 2005. *Production of Biosurfactant by Locally Isolated Bacteria from Petrochemical Waste*. Thesis. Faculty of Science Universitas Teknologi Malaysia

- Hidayat. 2016. Pengaruh Jumlah Katalis Zeolit Alam pada Produk Proses Pirolisis Limbah Plastik Polipropilen (Pp). *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*. Vol 4 (2): 40-45
- Setiani, N. A., N. Agustina, I. Mardiah, S. Hamdani, D. Astriany. 2020. Potensi *Bacillus cereus* Dalam Produksi Biosurfaktan. *JURNAL BIOLOGI UDAYANA*. Vol 24 (2): 135-141
- Suryanti, Y., S. Hastuti, D. S. Handayani, Windrawati. 2014. Biosintesis Biosurfaktan Oleh *Pseudomonas aeruginosa* Menggunakan Limbah Cair Industri Tapioka Sebagai Media. *ALCHEMY jurnal penelitian kimia*. Vol 10 (1): 22-30
- Walter, V., C. Sylatk, R. Hausmann. 2010. Screening Concepts for The Isolation of Biosurfactant Producing Microorganisms. *Adv Exp Med Biol*. Vol 672: 1-13
- Wongsa, P., M. Tanaka, A. Ueno, M. Hasanuzzaman, I. Yumoto, H. Okuyanma. 2004. Isolation and Characterization of Novel Strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* Possessing High Efficiency to Degrade Gasoline, Kerosene, Diesel Oil, and Lubricating Oil. *Current Microbiology*. Vol 49: 415-422
- Yasmin, Z., R. Wulansarie. 2018. Review Perbandingan Pencemaran Minyak di Perairan dengan Proses Bioremediasi Menggunakan Metode Biostimulus dan Bioaugmentasi. *Jurnal Reka Buana*. Vol 3 (1): 67-72
- Yuliana, C., R. Hertadi, dan D. Wahyuningrum. 2019. Produksi dan Optimasi Biosurfaktan dari Bakteri Halofilik *Chromohalobacter japonicas* BK-AB. *CHEESA: Chemical Engineering Research Article*. Vol 2 (2): 56-65
- Zain, F. M. 2019. Pipa Pertamina di Cilacap Bocor, Air Sumur Tercemar Solar, Tanaman Rusak.
<https://regional.kompas.com/read/2019/10/11/20051701/pipa-pertamina-di-cilacap-bocor-air-sumur-tercemar-solar-tanaman-rusak>. Diakses pada 09 Januari 2021 pukul 23.04 WIB