

**OPTIMASI PRODUKSI, KARAKTERISASI, DAN UJI INHIBISI KOROSI
BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI *Bacillus oceanisediminis* PKT B3**

(Skripsi)

Oleh

PUTRI KUSWEDARI



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

OPTIMASI PRODUKSI, KARAKTERISASI, DAN UJI INHIBISI KOROSI BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI *Bacillus oceanisediminis* PKT B3

Oleh

PUTRI KUSWEDARI

Biosurfaktan merupakan senyawa aktif permukaan yang disintesis oleh mikroba dengan menggunakan berbagai sumber karbon dan sumber nitrogen. Biosurfaktan menjadi salah satu surfaktan alam yang banyak digunakan dalam berbagai industri. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi sumber nitrogen terbaik dalam memproduksi biosurfaktan dari bakteri *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 yang berasal dari proses pengomposan limbah domestik serta menguji potensinya sebagai inhibitor korosi. Metode yang dilakukan meliputi optimasi sumber nitrogen, produksi biosurfaktan, uji biosurfaktan, karakterisasi biosurfaktan dengan menggunakan FT-IR, serta uji potensi biosurfaktan sebagai inhibitor korosi. Kondisi optimum sumber nitrogen untuk produksi biosurfaktan diperoleh dengan menggunakan NH_4Cl 0,5%. Biosurfaktan dari bakteri *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 memiliki ciri-ciri fisik biosurfaktan berwarna putih kekuningan sebanyak 0,5990 g dengan nilai indeks emulsi sebesar 70%. Hasil analisa data FT-IR memperlihatkan adanya serapan dari gugus fungsi pada daerah 3273 cm^{-1} (N-H *stretching*), 1531 cm^{-1} (Deformasi N-H dan C-N *stretching*), 1629 cm^{-1} (CO-N *stretching*), $1629\text{-}1396\text{ cm}^{-1}$ (C-H (rantai alifatik)), dan $1236\text{-}1055\text{ cm}^{-1}$ (C-N *stretching* (ikatan peptida)) yang merupakan ciri-ciri khas serapan untuk jenis lipopeptida. Uji inhibisi korosi menunjukkan bahwa penambahan inhibitor dapat menurunkan laju korosi dengan nilai persen proteksi sebesar 92,24% dalam NaCl 3% dan 53,57% dalam NaCl 3% jenuh CO_2 pada konsentrasi biosurfaktan 150 ppm. Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa biosurfaktan jenis lipopeptida dari bakteri *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 mampu digunakan dalam menginhibisi korosi baja.

Kata Kunci : Biosurfaktan, lipopeptida, FT-IR, indeks emulsi, inhibisi korosi.

ABSTRACT

OPTIMIZED PRODUCTION, CHARACTERIZATION, AND CORROSION INHIBITION TEST OF BIOSURFACTANT FROM BACTERIA *Bacillus oceanisediminis* PKT B3

By

PUTRI KUSWEDARI

Biosurfactants are surface active compounds synthesized by microbes using various carbon and nitrogen sources. Biosurfactant is one of the natural surfactants that is widely used in various industries. This study aims to obtain the best nitrogen source conditions in producing biosurfactant from the bacterium *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 originating from the composting process of domestic waste and to test its potential as a corrosion inhibitor. The methods used included optimization of nitrogen sources, biosurfactant production, biosurfactant testing, biosurfactant characterization using FT-IR, and biosurfactant potential as a corrosion inhibitor test. The optimum conditions for the nitrogen source for biosurfactant production were obtained using 0,5% NH₄Cl. Biosurfactant from the bacterium *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 has the physical characteristics of a yellowish white biosurfactant of 0.5990 g with an emulsion index value of 70%. The results of the FT-IR data analysis showed that there was absorption from functional groups in the region 3273 cm⁻¹ (N-H stretching), 1531 cm⁻¹ (N-H and C-N stretching deformation), 1629 cm⁻¹ (CO-N stretching), 1629-1396 cm⁻¹ (C-H (aliphatic chain)), and 1236-1055 cm⁻¹ (C-N stretching (peptide bond)) which are characteristic absorption for this type of lipopeptide. The corrosion inhibition test shows that the addition of inhibitor can reduce the corrosion rate with a protection percent value of 92.24% in 3% NaCl and 53.57% in 3% NaCl CO₂-saturated at a biosurfactant concentration of 150 ppm. Based on the results of this study, it can be concluded that the lipopeptide type biosurfactant from the bacterium *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 can be used to inhibit steel corrosion.

Keywords : Biosurfactant, lipopeptide, FT-IR, emulsification indeks, corrosion inhibition

**OPTIMASI PRODUKSI, KARAKTERISASI, DAN UJI INHIBISI KOROSI
BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI *Bacillus oceanisediminis* PKT B3**

Oleh

PUTRI KUSWEDARI

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
2023**

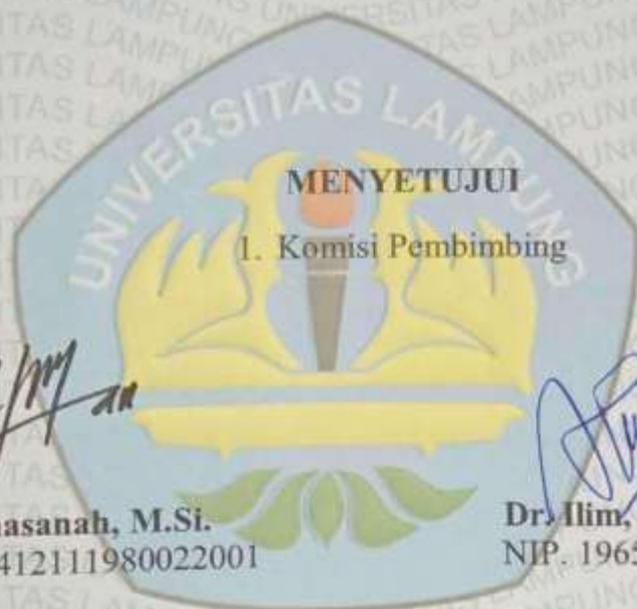
Judul Skripsi : **OPTIMASI PRODUKSI, KARAKTERISASI,
DAN UJI INHIBISI KOROSI
BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI *Bacillus
oceanisediminis* PKT B3**

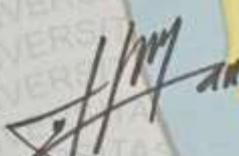
Nama Mahasiswa : Putri Kuswedari

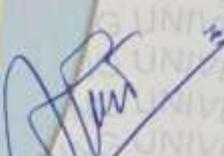
Nomor Pokok Mahasiswa : 1657011006

Program Studi : Kimia

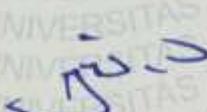
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Dr. Nurhasanah, M.Si.
NIP. 197412111980022001


Dr. Ilim, M.S.
NIP. 196505251990032002

2. Ketua Jurusan Kimia
FMIPA Universitas Lampung

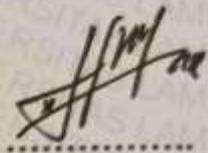

Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

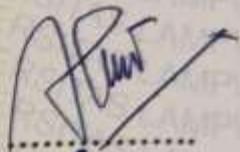
Ketua

: **Dr. Nurhasanah, M.Si.**



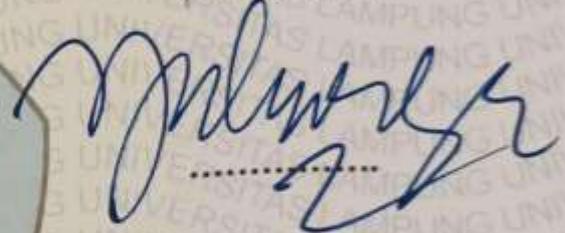
Sekretaris

: **Dr. Ilim, M.S.**



Anggota

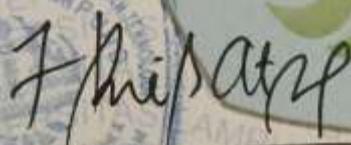
: **Prof. Suharso, Ph.D.**



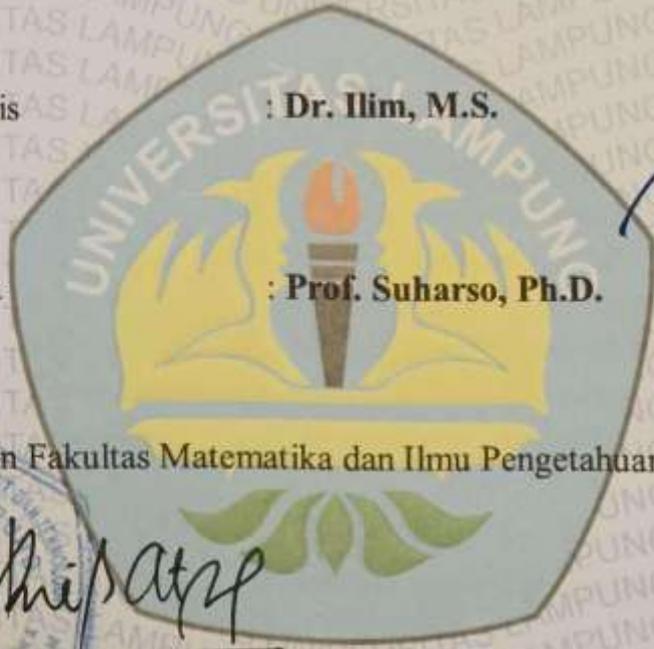
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.

NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **25 Mei 2023**



SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Kuswedari
Nomor Pokok Mahasiswa : 1657011006
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, Karakterisasi, dan Uji Inhibisi Korosi Biosurfaktan dari Bakteri *Bacillus Oceanisediminis* PKT B3**" adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

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

Bandar Lampung, 05 Desember 2023

Yang Menyatakan

A 10,000 Rupiah revenue stamp (Meterai Tempel) is placed over the signature. The stamp features the Garuda Pancasila emblem and the text '10000', 'METERAI TEMPEL', and the serial number '890AKX76878207'.

Putri Kuswedari

NPM. 1657011006

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Putri Kuswedari dilahirkan di Srimenanti pada 16 September 1998 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara, putri dari bapak Warsidhi dan ibu Khusnul Khotimah. Jenjang pendidikan diawali dari Taman Kanak-Kanak di TK Al-Huda (2004), Sekolah Dasar di SD Negeri 2 Sribhawono (2010), Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 1 Bandar Sribhawono (2013), dan Sekolah Menengah Akhir di SMA Negeri 1 Bandar Sribhawono (2016). Penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada tahun 2016 melalui jalur Mandiri.

Selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung, penulis pernah menjadi asisten biokimia bioter pada semester genap tahun 2020/2021. Penulis mengikuti organisasi kemahasiswaan diantaranya yaitu KAMI (Kader Muda Himaki) FMIPA Unila periode 2016/2017, HIMAKI (Himpunan Mahasiswa Kimia) sebagai bidang Penerbitan periode 2017/2018, ROIS FMIPA Unila periode 2017/2018, dan IKAM LAMTIM (Ikatan Mahasiswa Lampung Timur) periode 2018/2019.

Penulis melakukan Praktik Kerja Lapangan (PKL) pada tahun 2019 hingga 2020 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Sebagai

bentuk aplikasi bidang ilmu kepada masyarakat, penulis telah melaksanakan KKN (Kuliah Kerja Nyata) pada tahun 2019 di Desa Basungan, Kecamatan Pagar Alam, Kabupaten Lampung Barat, Provinsi Lampung. Sebagai bentuk aplikasi bidang ilmu di dunia kerja, penulis telah menyelesaikan Skripsi yang berjudul **“Optimasi Produksi, Karakterisasi, dan Uji Inhibisi Korosi Biosurfaktan dari Bakteri *Bacillus Oceanisediminis* PKT B3”**. Penulis dinyatakan lulus sebagai sarjana sains pada bulan Mei 2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

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

“Keluarga Tercinta”

Ayahku Warsidhi dan Ibuku Khusnul Khotimah yang telah memberikan kasih sayang, dukungan, serta do'a terbaik sepanjang waktu yang mungkin takkan pernah terbalaskan dengan apapun dan sampai kapanpun, serta Adik-adikku Annisa Kholifatul Jannah dan Ahmad Zahid Abdullah yang selalu memberikan keceriaan dan semangat baru.

Kerabat, sahabat, serta teman-teman yang senantiasa mendukung dan mendoakan Diri sendiri, terimakasih telah bertahan sejauh ini, selalu bekerja keras dan berusaha melakukan yang terbaik.

Rasa Hormat Saya Kepada:

Dr. Nurhasanah, M.Si.

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

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

Alamamater Tercinta

Universitas Lampung

MOTTO

“Ketahuilah bahwa kemenangan bersama kesabaran, kelapangan bersama kesempitan, dan kesulitan bersama kemudahan” (HR, Tirmidzi)

“Bersemangatlal atas hal-hal yang bermanfaat bagimu. Minta tolonglah pada Allah, jangan engkau lemah” (HR, Muslim)

*“Mulailah dari tempatmu berada. Gunakan yang kau punya. Lakukan yang kau bisa”
(Arthur Ashe)*

*“Seorang pemenang adalah mereka yang bangun sekali lagi ketika dia dirobohkan”
(Kim Hanbin)*

“Tujuan utama kita dalam hidup ini adalah untuk membantu orang lain. Jika kamu tidak dapat membantu mereka, setidaknya jangan menyakiti mereka” (Dalai Lama)

SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Optimasi Produksi, Karakterisasi, dan Uji Inhibisi Korosi Biosurfaktan dari Bakteri *Bacillus Oceanisediminis* PKT B3**” sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Sains pada program studi Kimia FMIPA Universitas Lampung. Sholawat teriring salam semoga Allah SWT sampaikan kepada baginda Nabi Muhammad SAW dan semoga kita mendapatkan syafa’at dari-Nya di Yaumul akhir kelak, Aamin.

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 ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Kedua orang tua, Ayah dan Bunda terimakasih atas semua cinta, kasih sayang serta pengorbanan yang telah kalian berikan pada Penulis. Terimakasih atas segala do’a, perhatian, motivasi dan dukungan yang luar biasa kepada Penulis sehingga Penulis dapat menyelesaikan pendidikan hingga menjadi sarjana. Semoga Ayah dan Bunda selalu diberikan kesehatan dan selalu dalam lindungan Allah SWT.
2. Adik-adikku, Annisa Kholifatul Jannah dan Ahmad Zahid Abdullah yang selalu memberikan do’a dan senantiasa memberikan dukungan kepada Penulis dalam keadaan apapun.
3. Keluarga besar, terimakasih untuk semua do’a dan dukungan yang telah diberikan kepada Penulis.

4. Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si., selaku pembimbing 1 yang senantiasa membimbing dengan sabar, memberikan ilmu, motivasi, kritik dan saran terbaik sehingga Penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Ilim, M.S., selaku pembimbing 2 yang telah memberikan bimbingan, ilmu, saran serta nasihat sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Prof. Suharso, Ph.D., selaku pembahas atas kehadirannya memberikan arahan, koreksi dan saran kepada Penulis.
7. Ibu Prof. DR. Tati Suhartati, M.S., selaku pembimbing akademik yang telah membimbing dan memberikan nasihat yang bermanfaat kepada Penulis.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
Terimakasih atas seluruh ilmu, pengalaman dan motivasi yang telah diberikan kepada Penulis.
9. Bapak Dr. Mulyono, M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
11. Segenap staf administrasi dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA universitas Lampung.
12. *“Nurhasanah’s Research Group”* , Kak Silvana Citra, Kak Meitri Ayu Ningrum, Kak Vicky Dila Cahyani, Kak Ani Nurhayati, Kak Wiwin Indrianti, Yoanda Widiadita, Fadhilah Rachmawati, Melly Yusnidar, Qonita Nurul Husna, Ria mela Rosi, Nur Mayana Putri.
13. Teman, Kakak, dan adik seperjuangan di Laboratorium Biokimia: Kak Ani, Kak Citra, Kak Wiwin, Melly, Mela, Sri, Nurmay, Adel. Terimakasih atas segala bantuan kepada Penulis selama penelitian di Laboratorium Biokimia.

14. Rekan-rekan seperjuangan Kimia 2016. Terimakasih atas suka duka dan kebersamaan selama kuliah, semoga Allah SWT memberikan kesuksesan untuk kita semua, Aamiin.
15. “Ugheeta solihah Group” Elma Munika, S.Si., Novita Andriyani, S.Si., Habibah Monanisa, S.Si., Viola Alfionita. Terimakasih atas segala kebaikan, dukungan, serta bantuan yang diberikan untuk Penulis dalam segala situasi, semoga kita tetap bersama *Till Jannah*, Aamiin.
16. Teman seperjuangan hingga akhir, Annisa Gabrel, Mifta Rahma, Anita, Tirza, Irsad, Annisa Eka, Candra, Afdahul. Terimakasih atas dukungan dan bantuan yang diberikan untuk Penulis. Semoga sukses selalu.
17. “*My Girls*” Suci Rahmawati dan Aminova Dian Hariani. Terimakasih atas segala do’a, dukungan, dan motivasi yang telah diberikan kepada Penulis.
18. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu oleh Penulis. Terimakasih telah membantu dan mendo’akan Penulis dengan tulus dan ikhlas dalam proses penyelesaian skripsi ini

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

Bandar Lampung, 05 Desember 2023

Penulis

Putri Kuswedari

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xix
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian.....	4
C. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
A. Biosurfaktan	5
1. Aplikasi Biosurfaktan	6
2. Bakteri Penghasil Biosurfaktan	7
3. Produksi Biosurfaktan.....	9
4. Ekstraksi Biosurfaktan.....	11
5. Faktor- Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan	11
B. Uji Biosurfaktan	15
C. <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FT-IR).....	18
D. Korosi dan Inhibitor Korosi	20
1. Korosi.....	20
2. Mekanisme Korosi	21
3. Inhibitor Korosi.....	22
4. Penentuan Laju Korosi.....	25
E. <i>Scanning Electron Microscopy</i> (SEM).....	26

III. METODE PENELITIAN.....	29
A. Waktu dan Tempat	29
B. Alat Dan Bahan	29
C. Prosedur Penelitian.....	30
1. Tahap Persiapan.....	30
2. Pembuatan Media	30
3. Peremajaan Isolat Bakteri Lokal PKT B3.....	31
4. Uji Biosurfaktan.....	31
5. Optimasi Sumber Nitrogen	33
6. Produksi Biosurfaktan.....	33
7. Ekstraksi Biosurfaktan	33
8. Karakterisasi Biosurfaktan.....	34
9. Uji Inhibisi Korosi	34
D. Bagan Alir Penelitian	36
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	37
A. Isolat Bakteri Lokal PKT B3 Penghasil Biosurfaktan.....	37
B. Kondisi Optimum Sumber Nitrogen	38
C. Biosurfaktan dari Bakteri isolat PKT B3.....	42
D. Karakterisasi Biosurfaktan menggunakan FT-IR.....	43
E. Uji Inhibisi Korosi.....	46
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	41
A. Simpulan.....	41
B. Saran.....	42
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN.....	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema Alat FT-IR, (1) Sumber Inframerah, (2) Pembagi Berkas, (3) Kaca Pemantul, (4) Sensor Inframerah, (5) sampel, dan (6) <i>Display</i> (Anam <i>et al.</i> , 2007).....	18
2. Spektrum FT-IR biosurfaktan oleh bakteri <i>Halmonas Meridiana BK-AB4</i> (Sari <i>et al.</i> , 2018).....	20
3. Spektrum biosurfaktan oleh Alga coklat <i>Sargassum sp.</i> (Nandari <i>et al.</i> , 2019).	20
4. Diagram skematis mekanisme adsorpsi biosurfaktan jenis rhamnolipid pada permukaan baja ringan (Stiadi <i>et al.</i> , 2019)	25
5. Bagan alir penelitian	36
6. Hasil peremajaan isolat bakteri lokal PKT B3	38
7. Nilai indeks emulsifikasi (a) dan <i>Oil spreading</i> (b) pada optimasi sumber nitrogen.....	39
8. Ekstrak kering biosurfaktan setelah di <i>freeze drying</i>	43
9. Uji emulsifikasi terhadap ekstrak biosurfaktan.....	43
10. Spektrum FT-IR biosurfaktan dari isolat PKT B3	44
11. Grafik pengaruh konsentrasi inhibitor biosurfaktan terhadap (a) laju dan (b) persen proteksi korosi baja dalam larutan NaCl 3% dan larutan NaCl 3% jenuh CO ₂	47
12. Inokulum bakteri <i>Bacillus oenisediminis</i> PKT B3 pada Media NB.....	42
13. Optimasi sumber nitrogen dengan berbagai variasi konsentrasi (a). NH ₄ Cl 0,3% dan 0,5% (b). Urea 0,3% dan 0,5% dan (c). tanpa penambahan sumber nitrogen.....	43
14. Uji <i>drop collapse</i> pada media pertumbuhan	48

15. Produksi biosurfaktan menggunakan media MSM dengan penambahan sumber karbon dan sumber nitrogen	48
16. Ekstrak kasar biosurfaktan setelah dilakukan presipitasi asam	48
17. Uji inhibisi korosi menggunakan metode <i>wheel test</i>	51

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jenis mikroba dan biosurfaktan yang dihasilkan (Banat <i>et al.</i> , 2010).	10
2. Frekuensi regangan inframerah untuk beberapa jenis ikatan (Hart, 2003).	19
3. Uji biosurfaktan pada optimasi sumber nitrogen	39
4. Perhitungan berat kering ekstrak biosurfaktan.....	42
5. Absorpsi FT-IR biosurfaktan dari isolat bakteri <i>Bacillus oceanisediminis</i> PKT B3 terhadap berbagai data FT-IR biosurfaktan dari peneliti lainnya.	45
6. Hasil Penentuan laju korosi biosurfaktan dengan metode <i>wheel test</i>	46
7. Perbandingan penentuan laju korosi dengan metode <i>wheel test</i> pada medium korosif dengan dan tanpa dijenuhkan oleh CO ₂	48
8. Pengaruh hidrokarbon uji pada media MSM+NH ₄ Cl 0,3% dengan uji emulsifikasi, <i>oil spreading</i> , dan <i>drop collapse</i>	43
9. Pengaruh hidrokarbon uji pada media MSM+NH ₄ Cl 0,5% dengan uji emulsifikasi, <i>oil spreading</i> , dan <i>drop collapse</i>	44
10. Pengaruh hidrokarbon uji pada media MSM+Urea 0,3% dengan uji emulsifikasi, <i>oil spreading</i> , dan <i>drop collapse</i>	45
11. Pengaruh hidrokarbon uji pada media MSM+Urea 0,5% dengan uji emulsifikasi, <i>oil spreading</i> , dan <i>drop collapse</i>	46
12. Pengaruh hidrokarbon uji pada media MSM tanpa penambahan sumber nitrogen dengan uji emulsifikasi, <i>oil spreading</i> , dan <i>drop collapse</i>	47
13. Pengukuran dimensi dan penimbangan baja lunak pada medium korosif NaCl 3%.....	49
14. Pengukuran dimensi dan penimbangan baja lunak pada medium korosif NaCl 3% jenuh CO ₂	50

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Surfaktan merupakan molekul amfipatik yang terdiri dari domain hidrofobik dan hidrofilik, memiliki sifat aktif permukaan serta kecenderungannya untuk teradsorpsi pada antarmuka. Bagian polar pada surfaktan yang merupakan bagian hidrofilik menunjukkan daya tarik terhadap pelarut polar, sedangkan pada bagian hidrofob menunjukkan daya tarik terhadap minyak (Dave dan Joshi, 2017). Surfaktan telah banyak digunakan dalam bidang industri seperti deterjen, zat pengemulsi, obat-obatan, dan perawatan anti-korosif (Shaban *et al.*, 2020). Surfaktan sintesis (surfaktan yang disintesis dengan reaksi kimia) sering menjadi pilihan namun tidak *biodegradable* sehingga banyak menimbulkan masalah lingkungan. Masalah tersebut dapat diselesaikan dengan adanya biosurfaktan, yaitu jenis surfaktan alami yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu seperti bakteri, ragi, dan jamur dengan menumbuhkannya pada media dan kondisi tertentu.

Biosurfaktan merupakan senyawa produk metabolit sekunder dari mikroba yang mengemulsi minyak dalam air dan dapat mengurangi tegangan permukaan, sehingga dapat dijadikan pengganti surfaktan dalam meningkatkan degradasi hidrokarbon dalam proses biodegradasi. Pada dasarnya biosurfaktan memerlukan biaya yang tinggi dalam pembuatannya. Untuk mengatasi hal tersebut, penelitian mengenai bakteri penghasil biosurfaktan banyak dilakukan dengan memanfaatkan limbah industri dan minyak nabati yang mengandung bahan organik sebagai substrat pertumbuhan dengan tujuan untuk menurunkan biaya produksi biosurfaktan (Septihanny dan Moentamaria, 2020). Minyak nabati seperti minyak zaitun merupakan salah satu hasil industri yang dipilih sebagai substrat karena

memiliki kandungan asam lemak tidak jenuh yang cukup besar (Souza *et al.*, 2018).

Produksi biosurfaktan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti substrat pertumbuhan yaitu dengan penambahan sumber karbon alami. Menurut Septihanny dan Moentamaria (2020), mikroorganisme dapat memproduksi biosurfaktan ketika ditumbuhkan pada substrat organik seperti karbohidat, lemak, dan protein. Selain sumber karbon sebagai substrat pertumbuhan, sumber lainnya yaitu berupa sumber nitrogen. Penambahan sumber nitrogen berperan dalam mengontrol pH medium sehingga hasil yang didapatkan lebih baik. Sun *et al.*, (2020) menyatakan bahwa *Pseudomonas sp.* CQ₂ dapat tumbuh dengan baik pada ammonium nitrat sebagai sumber nitrogen. Faktor lainnya yang berpengaruh yaitu parameter fisika dan kimia seperti aerasi, suhu, dan pH. Konsentrasi NaCl juga memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Utami *et al.*, 2013).

Beberapa penelitian terkait penggunaan berbagai sumber karbon dan sumber nitrogen telah dilakukan dalam memproduksi biosurfaktan diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Setiani *et al.* (2020) dengan menambahkan minyak kelapa sebagai media fermentasi dalam produksi biosurfaktan oleh *Bacillus cereus*. Minyak zaitun, minyak jagung, minyak kelapa sawit, minyak kacang kedelai dan minyak bunga matahari digunakan sebagai media fermentasi dalam produksi biosurfaktan oleh bakteri halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18. Minyak nabati seperti zaitun ini terbukti dapat mengalami biotransformasi. Selain itu, bakteri tersebut juga dapat tumbuh optimum dengan penambahan urea sebagai sumber nitrogen dengan nilai tegangan permukaan sebesar 34 dyne/cm serta indeks emulsifikasi sebesar 76% (Yuliana *et al.*, 2019). Dange *et al.* (2020) memproduksi biosurfaktan jenis rhamnolipid dari bakteri *Pseudomonas sp.* dan jenis lipopeptida dari bakteri *Serratia sp.* yang ditumbuhkan pada oli mesin sebagai sumber karbon dan NaNO₃ sebagai sumber nitrogen pada kondisi pH 7.

Biosurfaktan lebih banyak diminati dibandingkan surfaktan sintesis karena keunggulannya yang ramah lingkungan yaitu *biodegradable* (dapat terdegradasi secara alami), tidak toksik (beracun), dan efektif pada suhu, pH dan salinitas yang ekstrem (Makkar, 2011). Saat ini, biosurfaktan dapat digunakan dalam bidang pertanian sebagai biokontrol penyakit tanaman, deterjen dan biopestisida. Pada bidang kesehatan, biosurfaktan berperan sebagai aktivitas antimikroba dan antikanker. Pada bidang industri, biosurfaktan dapat digunakan pada industri kosmetik sebagai zat pengemulsi (*emulsifier*), *wetting agents*, *cleansers* dan agen antimikroba. Biosurfaktan juga dapat digunakan sebagai biokatalis untuk peningkatan minyak bumi, serta berperan dalam mengekstraksi minyak bumi, peningkatan dan pemurnian petrokimia. Selain itu, biosurfaktan juga berperan sebagai inhibitor korosi (Fakruddin, 2012).

Korosi merupakan salah satu masalah yang dapat dianggap merugikan dalam dunia industri. Korosi memang tidak dapat dihindari, namun dapat dikendalikan laju korosinya. Oleh sebab itu beberapa cara telah dilakukan untuk dapat mengurangi korosi terhadap instalasi industri, salah satu cara paling efektif yakni dengan penambahan inhibitor korosi (Khumaidah *et al.*, 2019). Upaya mengoptimalkan potensi biosurfaktan sebagai inhibitor korosi, dilakukan dengan pencarian strain lokal dalam menghasilkan biosurfaktan yang kemudian digunakan untuk memperlambat laju korosi yang terbentuk (Malik *et al.*, 2011).

Biosurfaktan yang telah diproduksi dapat diuji aktivitasnya sebagai inhibitor korosi. Biosurfaktan yang digunakan sebagai inhibitor korosi dapat berasal dari berbagai sumber, seperti bakteri halofilik *H. Meridiana* BK-AB4 dengan konsentrasi biosurfaktan sekitar 200 ppm dan tingkat inhibisi yang dihasilkan sebesar 53,23% (Sari *et al.*, 2018), alga coklat *Sargassum sp.* (Nandari *et al.*, 2019), bakteri gram-negatif *P. fluorescens* dapat menunda terbentuknya korosi pada baja tahan karat (Dagbert *et al.*, 2006), dan bakteri *Pseudomonas sp. PS-17* dapat menghambat korosi pada alumunium D166T dalam air suling dan NaCl 0,1% (Zin *et al.*, 2014).

Studi awal yang sudah dilakukan, biosurfaktan dari bakteri isolat lokal *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 telah berhasil diperoleh dengan penambahan minyak zaitun sebagai sumber karbon pada kondisi pH 6, kadar garam sebesar 5% , dan waktu inkubasi selama 120 jam, namun penggunaan sumber nitrogen pada pertumbuhan belum dilakukan (Kuswedari, 2020).

Berdasarkan latar belakang diatas dan aplikasi biosurfaktan yang cukup luas, pada penelitian ini dilakukan optimasi produksi biosurfaktan dengan bervariasi sumber nitrogen dan karakterisasi biosurfaktan yang dihasilkan dengan menggunakan analisis FT-IR. Setelah itu, biosurfaktan yang diproduksi diuji aplikasinya sebagai inhibitor korosi.

B. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan kondisi sumber nitrogen terbaik untuk pertumbuhan dalam memproduksi biosurfaktan dari *Bacillus oceanisediminis* PKT B3.
2. Memperoleh karakteristik biosurfaktan dari *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 melalui data FT-IR.
3. Mengetahui potensi biosurfaktan sebagai inhibitor korosi.

C. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai kemampuan mikroba lokal dalam memproduksi biosurfaktan dengan memanfaatkan sumber karbon dan sumber nitrogen sebagai substrat media pertumbuhan. Penelitian ini juga memberikan informasi mengenai potensi biosurfaktan yang dihasilkan dari *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 melalui kemampuannya sebagai inhibitor korosi.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Biosurfaktan

Biosurfaktan merupakan komponen mikroorganisme yang terdiri dari molekul hidrofobik dan hidrofilik, mampu mengikat molekul hidrokarbon tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan. Biosurfaktan juga merupakan surfaktan alami yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme dengan cara menumbuhkannya pada media dan kondisi tertentu. Banyak organisme yang dapat menghasilkan biosurfaktan saat ditumbuhkan pada media dengan penambahan sumber karbon maupun sumber nitrogen. Selain itu, biosurfaktan mudah didegradasi karena dapat menyebabkan emulsifikasi hidrokarbon pada biosurfaktan (Yan *et al.*, 2012).

Biosurfaktan dapat dikelompokkan berdasarkan komposisi kimia dan mikroba penghasilnya. Biosurfaktan terdiri dari lemak kompleks atau sederhana serta turunannya. Rantai karbon panjang biasanya terdapat pada bagian hidrofobik dan bagian hidrofilik berupa gugus fungsi organik (nonionik, bermuatan positif, bermuatan negatif, atau amfoter) (Hoskova, 2013). Secara umum, gugus hidrofilik terdiri atas asam amino atau peptida sedangkan gugus hidrofobik mengandung lemak jenuh, tak jenuh atau asam lemak. Berdasarkan struktur dari bagian hidrofiliknya, biosurfaktan dapat diklasifikasikan ke dalam lima tipe yang berbeda yaitu lipopeptida, glikolipid, lipopolisakarida, lipid netral, dan asam lemak atau fosfolipida (Moya *et al.*, 2015). Rhamnolipid merupakan jenis biosurfaktan dari kelompok glikolipid yang paling banyak dipelajari dan dikarakterisasi. Glikolipid mengandung karbohidrat seperti soforosa, trehalosa atau rhamnosa yang bergabung ke asam alifatik rantai panjang atau lipopeptida (Varjani *et al.*, 2015).

Ekor hidrofobik pada struktur biosurfaktan, dapat dikatakan sebagai substrat, adanya pergantian substrat sering menyebabkan perubahan struktur dan sifat dari produk yang dihasilkan. Biosurfaktan dapat dihasilkan dari beberapa mikroorganisme yang mana hanya ditumbuhkan pada hidrokarbon, sedangkan yang lainnya memerlukan tambahan substrat yang larut dalam air seperti karbohidrat dan asam amino. Substrat lain yang dapat digunakan untuk menghasilkan biosurfaktan yaitu minyak, lemak, dan asam lemak (Varjani, 2017). Jumlah produksi biosurfaktan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sumber karbon alami; sumber nitrogen; serta parameter fisika dan kimia seperti aerasi, suhu, dan pH. Biosurfaktan dapat diproduksi dari berbagai substrat yang dapat diperbaharui (Moya *et al.*, 2015).

Mikroba dapat beradaptasi melalui biosurfaktan untuk memetabolisme hidrokarbon yang mana merupakan respon fisiologis terhadap kebutuhan tertentu yang dihadapi oleh sel pada lingkungan tertentu. Beberapa bakteri mampu membuat akses ke substrat yang sulit larut dan menyebabkan biosurfaktan yang dihasilkan memiliki berat molekul yang rendah. Biosurfaktan yang terikat pada dinding sel menyebabkan beberapa bakteri berinteraksi dengan hidrokarbon sehingga permukaan sel menjadi sesuai dengan substrat hidrofobik (Souza *et al.*, 2014). Biosurfaktan dalam sel mikroba memiliki fungsi utama yaitu mengemulsi substrat tidak larut air seperti hidrokarbon dan mampu memiliki akses ke dalam sel untuk memicu pertumbuhan. Adanya biosurfaktan dapat menyebabkan substrat cair teremulsi menjadi misel dan menyebarkan ke permukaan sel bakteri. Selain itu, biosurfaktan memecah substrat padat agar lebih mudah masuk ke dalam sel (Souza *et al.*, 2014). Biosurfaktan juga dapat memiliki aktivitas antimikroba bagi sebagian bakteri yang lainnya (Singh, 2012).

1. Aplikasi Biosurfaktan

Biosurfaktan dalam penggunaannya lebih menjanjikan jika dibandingkan dengan surfaktan yang disintesis secara kimiawi. Biosurfaktan memiliki sifat toksisitas yang lebih rendah, biodegradabilitas yang lebih tinggi, lebih kompatibel terhadap lingkungan seperti; pH, salinitas, dan suhu. Biosurfaktan memiliki aplikasi di berbagai bidang yakni aplikasi potensial di bidang pertanian, kosmetik, deterjen,

farmasi, produk perawatan diri, pengolahan makanan, tekstil, perlengkapan laundry, perawatan dan pengolahan logam, pulp dan pengolahan kertas, dan industri cat. Penggunaan utama biosurfaktan ada dalam studi mengenai teknologi *Enhanced Oil Recovery* (EOR) untuk meningkatkan bioremediasi karbon serta perolehan minyak (Banat *et al.*, 2010). Produksi biosurfaktan oleh mikroba menjadi produksi bioteknologi penting yang memiliki aplikasi luas di bidang industri dan medis.

Biosurfaktan memiliki sifat yang terkait dengan kepentingan terapi dan biomedis seperti sifat antibakteri, antijamur dan antivirus, mampu menghambat pembentukan gumpalan fibrin, serta memiliki sifat anti pelekatan terhadap beberapa mikroba patogen. Selain itu, biosurfaktan juga mampu menghambat laju korosi dalam bidang industri (Fakruddin, 2012). Pada industri pangan, biosurfaktan berperan sebagai agen pengemulsi dan bahan tambahan. Biosurfaktan sebagai agen antimikroba pada industri farmasi dan kesehatan, sebagai detergen untuk industri minyak bumi, serta sebagai agen pengemulsi yang dapat mempercepat proses degradasi dalam proses bioremediasi senyawa toksik di lingkungan (Singh, 2012).

Pada industri logam, kertas, tekstil maupun industri pertanian biosurfaktan ini digunakan sebagai agen pengemulsi dan agen pembasah (Banat *et al.*, 2010). Selain itu, biosurfaktan juga berpotensi sebagai inhibitor korosi yang fungsinya dapat memperlambat suatu laju korosi (Fakruddin, 2012). Menurut Malik *et al.* (2011), penggunaan inhibitor korosi akan menyerap gugus fungsi biosurfaktan ke permukaan logam. Kemampuan biosurfaktan untuk mengadsorpsi terkait dengan kemampuannya untuk beragregasi membentuk misel dan membentuk lapisan pelindung pada permukaan logam. Lapisan ini mengurangi atau mencegah korosi pada material.

2. Bakteri Penghasil Biosurfaktan

Mikroba penghasil biosurfaktan dapat diseleksi dengan cara mengambil sampel kemudian diisolasi. Isolasi mikroba penghasil biosurfaktan dapat dilakukan pada

lingkungan yang terkontaminasi senyawa organik hidrofobik karena dinilai lebih menjanjikan (Walter *et al.*, 2010). Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa lingkungan yang terkontaminasi oleh minyak dapat menghasilkan bakteri penghasil biosurfaktan (Nishanthi *et al.*, 2014, Souza *et al.*, 2014, Moya *et al.*, 2015, Gudina *et al.*, 2016). Bakteri penghasil biosurfaktan dilaporkan telah berhasil diperoleh dari lingkungan yang tidak terkontaminasi hidrokarbon, namun tidak sebanyak di lingkungan yang terkontaminasi. Hasil penelitian menunjukkan galur bakteri dapat diisolasi dari tanah tidak terkontaminasi yang kaya bahan organik, dari perairan (Souza *et al.*, 2014) serta dari limbah pabrik susu (Gudina *et al.*, 2011).

Jumlah produksi biosurfaktan yang diperoleh bergantung pada jenis mikroba penghasilnya seperti bakteri, jamur, dan ragi. Hasilnya beragam dalam komposisi kimia dan sifatnya. Kemampuan mikroba ini dapat tumbuh pada substrat yang mana dianggap berpotensi bahaya bagi mikroba yang tidak menghasilkan biosurfaktan (Sahara *et al.*, 2011). Hidrokarbon dan minyak mentah dapat digunakan sebagai sumber karbon tunggal oleh bakteri *B. subtilis* dan *P. aeruginosa* menghasilkan biosurfaktan dan dapat digunakan untuk membersihkan tumpahan minyak di lingkungan (Banat *et al.*, 2010).

Pada spesies *Bacillus* biasanya kebanyakan mensintesis antibiotik lipopeptida siklik selama tahap awal sporulasi, misalnya, *B. polymyxa* menghasilkan polymixin, suatu dekaeptida dengan 3-10 asam amino yang membentuk struktur cincin dan berikatan dengan asam lemak. *B. brevis* menghasilkan gramicidin S, suatu dekaeptida siklik yang mengandung cincin dengan dua rantai samping ornitin bermuatan positif di satu sisi dan rantai samping hidrofobik disisi lainnya. *B. licheniformis* menghasilkan campuran beberapa lipopeptida yang bertindak secara sinergis, dan dapat menurunkan tegangan antarmuka antara air dan n-heksadekana dengan nilai yang sangat rendah yaitu 0,36 mN/m. Lipopeptida siklik dengan aktivitas yang sangat tinggi yaitu diproduksi oleh *B. subtilis*. Surfaktin memiliki *Critical Micelle Concentration* (CMC) sebesar 25-50 mg/L dan dapat menurunkan tegangan permukaan air hingga 27 mN/m, sedangkan

tegangan antar muka terendah terhadap n-heksadekana adalah 1 mN/m (Franzetti *et al.*, 2010).

Biosurfaktan juga dapat dihasilkan oleh bakteri dari genus *Lactobacillus* meskipun jumlahnya lebih rendah dibandingkan dengan mikroba lainnya, seperti *B. subtilis* ataupun *P. aeruginosa*. Namun, penghasil biosurfaktan yang dinilai menjanjikan ada pada bakteri *L. paracasei ssp. paracasei* A20 yang diisolasi dari pabrik susu (Gudina *et al.*, 2011). Biosurfaktan dalam sel mikroba masih memiliki peran yang belum sepenuhnya dipahami. Namun, metabolit sekunder ini dapat meningkatkan transportasi nutrisi melintasi membran, berperan dalam berbagai interaksi mikroba dan inang, serta memberikan perlindungan bakterisidal dan fungisidal terhadap organisme penghasil (Souza *et al.*, 2014).

3. Produksi Biosurfaktan

Banyak mikroba memperlihatkan kemampuannya sebagai penghasil biosurfaktan dengan jenis tertentu (**Tabel 1**), terutama selama masa pertumbuhannya pada substrat tak larut air.

Berikut beberapa tipe produksi biosurfaktan yang ada (Banat *et al.*, 2010) :

1. Produksi pertumbuhan gabungan (*Growth-Associated Production*), terjadi hubungan yang paralel antara produksi biosurfaktan, pertumbuhan, dan pemanfaatan substrat. Pertumbuhan sel yang meningkat akan menyebabkan peningkatan dalam produksi biosurfaktan.
2. Produksi dibawah kondisi pertumbuhan terbatas (*production under growth-limiting conditions*), yaitu produksi yang menghasilkan adanya kenaikan biosurfaktan pada kondisi keterbatasan satu atau lebih komponen medium.
3. Produksi dengan *resting* atau *immobilized* sel, yaitu produksi biosurfaktan yang tidak melibatkan adanya pembelahan sel.
4. Produksi dengan memberi suplemen prekursor, yaitu produksi biosurfaktan dengan menambahkan nutrisi prekursor biosurfaktan pada media pertumbuhan dengan tujuan perubahan kualitatif dan kuantitatif biosurfaktan yang dihasilkan.

Tabel 1. Jenis mikroba dan biosurfaktan yang dihasilkan (Banat *et al.*, 2010)

Jenis Biosurfaktan	Jenis Mikroba
	<i>Arthrobacter paraffineus; Mycobacterium phlei; Rhodococcus crythropolis</i>
	<i>Mycobacterium fortitum; Micromonospora sp.; Mycobacterium smegmati; Mycobacterium paraffinicum</i>
Glikolipida	<i>Arthrobacter sp.; Corynebacterium diphtheria; Mycobacterium smegmatis</i>
	<i>Pseudomonas sp.; Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Candida spp.; Torulopsis petrophilum; Torulopsis apicola; Torulopsis bombicola</i>
Fosfolipida dan Asam Lemak	<i>Candida spp.; Corynebacterium spp.; Micrococcus spp.</i>
	<i>Acinetobacter spp.; Aspergillus spp.; Thiobacillus thioxidans</i>
	<i>Bacillus brevis</i>
Lipopeptida dan Lipoprotein	<i>Bacillus polymyxa</i>
	<i>Pseudomonas rubescens</i>
	<i>Gluconobacter cerinus</i>
	<i>Agrobacterium tumefaciens; Streptomyces sioyaensis</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Bacillus licheniformis</i>
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
	<i>Serratia marcescens</i>
	<i>Arthrobacter calcoaceticus RAG-1</i>
	<i>Arthrobacter calcoaceticus A2</i>
	<i>Arthrobacter calcoaceticus strains; Candida lipolytica</i>
Surfaktan Polimer	<i>Saccaromyces cerevisiae</i>
	<i>Candida petrophilium; Endomycopsis lipolytica</i>
	<i>Candida tropicalis</i>
	<i>Shizonella melanogramma; Ustilago maydis</i>
	<i>Debaryomyces polymorphus; Pseudomonas spp.; Pseudomonas fluorescens</i>
Biosurfaktan Partikular	<i>Acinetobacter sp. H01-N</i>
	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>
	Berbagai jenis mikroba

4. Ekstraksi Biosurfaktan

Ekstraksi biosurfaktan melibatkan pertukaran ion, kelarutan terhadap air, dan lokasi produk biosurfaktannya (intraseluler, ekstraseluler, atau berikatan dengan sel). Metode ekstraksi yang umum digunakan pada *system batch* yaitu dengan pelarut kloroform-metanol, diklorometan-metanol, butanol, etil asetat, pentana, hexana, asam asetat, eter, dan lain-lain. Pelarut organik yang digunakan dapat dilakukan secara kombinasi maupun tunggal. Biosurfaktan yang dikeluarkan dalam medium kemudian diisolasi dari kultur filtrat atau supernatan (Banat *et al.*, 2010).

5. Faktor- Faktor Yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan

Secara umum, faktor-faktor yang mempengaruhi komposisi biosurfaktan dalam media pertumbuhan ada pada substrat pertumbuhan, umur kultur, dan kondisi lingkungan (pH dan salinitas, temperatur, agitasi, dan ketersediaan oksigen) (Moya *et al.*, 2015).

1. Substrat Pertumbuhan

Pertumbuhan mikroorganisme tentunya membutuhkan sumber karbon, hidrogen, nitrogen, oksigen serta sedikit fosfor dan sulfur (Varjani *et al.*, 2013).

a. Sumber Karbon

Produksi biosurfaktan akan berpengaruh pada pemilihan sumber karbon dimana memiliki peran penting terhadap hasil dan struktur biosurfaktan. Sifat sumber karbon yang digunakan untuk pertumbuhan akan berpengaruh terhadap jenis, kualitas, dan kuantitas biosurfaktan yang dihasilkan. Sumber karbon yang banyak digunakan dalam produksi biosurfaktan yaitu hidrokarbon, karbohidrat, dan minyak nabati. Beberapa mikroorganisme ada yang memproduksi biosurfaktan hanya pada substrat tertentu saja, adapun yang mampu tumbuh pada sumber karbon yang

digabungkan atau terpisah. Bakteri yang memiliki kemampuan berbeda dalam menggunakan karbon dari substrat pertumbuhan akan memberikan aktivitas emulsifikasi yang berbeda serta kemampuan menurunkan tegangan permukaan kultur yang berbeda (Varjani, 2017).

Perlakuan sumber karbon yang berbeda akan menghasikan komposisi biosurfaktan yang berbeda. Panjang rantai substrat hidrokarbon sering mempengaruhi konsentrasi akhir fermentasi biosurfaktan (Varjani, 2017). Pada hasil penelitian Sun *et al.* (2020), *Pseudomonas sp. CQ2* ketika ditambahkan pada substrat hidrokarbon dapat memproduksi 100% biosurfaktan ekstraseluler, namun saat ditumbuhkan pada glukosa dan gliserol hanya memproduksi sebanyak 75%.

Bakteri *Pseudomonas sp.* mampu menggunakan mannitol, gliserol, dan etanol sebagai sumber karbon untuk memproduksi rhamnolipid, namun hasilnya rendah jika dibandingkan dengan substrat tidak larut seperti n-alkana dan *olive oil*. Biosurfaktan tipe glikolipid hanya dapat diproduksi pada substrat dengan sumber karbon glukosa, gliserol, dan *canola oil*, tetapi *Bravibacterium* mampu tumbuh pada sumber karbon glukosa, gliserol, molase, *canola oil*, dan limbah minyak (Banat *et al.*, 2010).

Penelitian oleh Sandri (2009) menyebutkan bahwa *Lysinibacillus sphaericus* mampu tumbuh pada sumber karbon yang berbeda dan memproduksi biosurfaktan dengan indeks emulsifikasi biosurfaktan yang berbeda pula. Sumber karbon yang digunakan yaitu *crude* gliserol, oli bekas, dan *crude oil*. Bakteri dapat memanfaatkan gliserol karena sifatnya yang larut air dan asam lemak yang terkandung dapat merangsang pembentukan biosurfaktan dengan cepat. Pada oli bekas dan *crude oil* dapat menyebabkan lambatnya pertumbuhan sel bakteri karena adanya senyawa heterogen yang terkandung, hal ini tentunya akan mempengaruhi pertumbuhan biosurfaktan (Sandri, 2009).

Moussa *et al* (2006) menyebutkan bahwa *Nocardia amarae* dapat menaikkan jumlah biosurfaktan yang dihasilkan dengan adanya penambahan *olive oil* hingga mencapai konsentrasi 3%(v/v). Namun ketika konsentrasi yang digunakan mencapai >3%(v/v), jumlah biosurfaktan akan menurun. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dapat meningkatkan jumlah produksi biosurfaktan seiring dengan kenaikan konsentrasi molase yang digunakan sebagai sumber karbon. Pentingnya unsur karbon dalam produksi biosurfaktan dapat dilihat berdasarkan berat mikroba, dimana ada sekitar 50% berat mikroba merupakan karbon sedangkan konsentrasi nitrogen 3-15% (Banat *et al.*, 2010).

Minyak zaitun merupakan salah satu sumber karbon yang dihasilkan dari perasan buah zaitun yang masih segar (baru). Minyak zaitun terdiri dari zat-zat minyak yang dinamakan gliserida (ester) dengan persentase 97% dan zat-zat minyak lainnya. Minyak zaitun juga mengandung berbagai vitamin (seperti vitamin A, B, C, D, dan vitamin E), zat-zat pewarna (seperti klorofil, *xanthophyll*), serta berbagai zat aromatik yang menimbulkan aroma dan rasa yang khas. Minyak zaitun juga mengandung sejumlah kecil mineral (besi, magnesium, dan kalsium), koloid, resin, dan air. Komposisi terbanyak dari minyak zaitun yaitu asam oleat sebanyak 55-83% dan paling sedikit yaitu asam stearat sebanyak 0.5 – 5.0% (Admin, 2012).

b. Sumber Nitrogen

Sumber lain yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroba yaitu sumber nitrogen. Produksi biosurfaktan menggunakan sumber nitrogen dapat memberikan hasil yang baik karena peranannya yang penting sebagai pengontrol pH dalam medium pertumbuhan. Garam ammonium dan urea memberikan hasil yang lebih baik untuk produksi biosurfaktan jenis bakteri halofilik *Chromohalobacter japonicus BK-AB18* (Yuliana *et al.*, 2019).

Medium pertumbuhan dengan konsentrasi nitrogen yang terlalu tinggi dengan hidrokarbon sebagai satu-satunya sumber karbon dapat menyebabkan keracunan pada bakteri. Produksi biosurfaktan yang berlebih dapat terjadi jika ketersediaan nitrogen yang terbatas, selain itu juga dapat mengubah komposisi dan biosurfaktan yang dihasilkan (Banat *et al.*, 2010).

Penelitian yang dilakukan oleh Sandri (2009) menerangkan bahwa *L. spaerichus* dapat tumbuh optimum pada media *bushnel-haas* dengan urea sebagai sumber nitrogen pada pH 6, namun ketika ditumbuhkan dalam medium dengan ammonium nitrat dapat menghasilkan biosurfaktan yang lebih tinggi dibandingkan dengan urea sebagai sumber nitrogen. *P. aeuginosa* dapat tumbuh lebih baik apabila sodium nitrat, ammonium nitrat, dan urea digunakan sebagai sumber nitrogen dibandingkan dengan sumber nitrogen lainnya (ammonium klorida dan *yeast extract*) (Moussa *et al.*, 2014).

2. Usia Kultur

Faktor penting lainnya untuk memproduksi biosurfaktan bergantung pada umur kultur. Produksi biosurfaktan secara signifikan meningkat pada saat memasuki fase stasioner sampai fase kematian bakteri. Usia kultur yang bertambah berkaitan dengan adanya pembentukan sel mikroba yang hidrofobik dan digunakan dalam emulsi minyak dalam air. Nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba akan semakin banyak jika usia kultur semakin tua, kemudian nutrisi dalam medium kultur *batch* semakin terbatas. Hal tersebut akan menyebabkan perubahan pada metabolisme sel dan produksi biosurfaktan (Budiarti, 2000).

3. Kondisi Lingkungan

pH, salinitas, temperatur, agitasi, dan ketersediaan oksigen merupakan kondisi lingkungan yang dapat mempengaruhi produksi biosurfaktan. Sandri (2009)

menyatakan bahwa pada pH 6 aktivitas emulsi yang baik terbentuk diperoleh pada bakteri *L. spaerichus*. Kestabilan maksimum dalam memproduksi biosurfaktan oleh strain *P. aeuginosa* terletak pada temperatur 37 °C hingga 40 °C serta pH medium antara 4-8. Selain itu, saat kecepatan agitasinya mengalami kenaikan, maka akan menurunkan jumlah produksi biosurfaktan (Moussa *et al.*, 2014). Namun, pada penelitian lainnya, ketika agitasi dan aerasi ditingkatkan maka produksi biosurfaktan akan meningkat.

Produksi biosurfaktan juga melibatkan salinitas dan kadar oksigen tergantung pada efek aktivitas selulernya. Salinitas yang terganggu akan mempengaruhi pertumbuhan sel dalam produksi biosurfaktan. Kultur yang mempunyai kondisi oksigen terbatas akan menghasilkan biosurfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan hingga mencapai mencapai 30 mN/m dimana pada kondisi aerob penuh atau anaerob hanya mencapai 40 mN/m (Budiarti, 2000).

B. Uji Biosurfaktan

Uji biosurfaktan dapat menentukan bakteri mana yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan. Metode karakterisasi yang digunakan dapat berupa:

1. Hemolisis

Uji pendahuluan yang dilakukan terhadap bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan adalah uji hemolisis. Uji hemolisis menggunakan metode kualitatif yaitu metode lisis sel darah merah (hemolisis) menggunakan medium spesifik bagi mikroba spesifik. Saat strain bakteri mengeluarkan senyawa aktif glikolipid dalam substrat hidrofilik akan terbentuk zona hemolisis. Prinsip pengujian hemolisis adalah melihat warna media yang akan berubah apabila bakteri ditumbuhkan diatas medium padat darah segar (Das *et al.*, 2008). Metode penapisan awal yang dilakukan yaitu dengan metode cawan darah agar kemudian dilanjutkan dengan pengukuran kemampuan emulsi aktivitas tegangan permukaan.

2. Aktivitas Emulsifikasi

Penetapan aktivitas emulsifikasi yang terdapat pada hidrokarbon uji suatu biosurfaktan menggunakan persentase tinggi lapisan tinggi emulsi (mm) dibagi dengan total tinggi dari cairan kolom kemudian dinyatakan sebagai indeks emulsifikasi ($IE_{24\%}$). Biosurfaktan mempunyai sifat tensioaktif, menghasilkan buih atau busa, dan membuat emulsi minyak dalam air atau dalam minyak yang berperan seperti surfaktan sintesis. Asam lemak yang bercabang dan panjang rantainya berbeda satu dengan spesies yang lain akan membentuk bagian hidrofobik dari molekul amfipatik. Asam lemak yang bercabang akan berikatan dengan cabang yang mengandung gugus asam amino. Bagian hidrofilik dari molekul amfifilik umumnya berupa peptida siklik yang mengandung tujuh asam amino (Varjani *et al.*, 2014).

Emulsi merupakan dispersi suatu larutan dalam larutan lain. Molekul-molekul pada kedua campuran tersebut tidak saling bercampur atau hanya sebagian. Campuran dua larutan yang ditambahkan bahan pengemulsi akan membentuk lapisan utuh antara kedua cairan tersebut dengan kondisi yang stabil dan lama karena dapat menurunkan tegangan permukaan. Menurut Fatimah (2007), aktivitas emulsifikasi yang lebih baik pada biosurfaktan yang dihasilkan dapat terjadi dengan adanya penambahan substrat glukosa oleh *Pseudomonas sp.* Beberapa jenis hidrokarbon uji seperti solar, minyak pelumas, dan heksadekan dapat diemulsifikasi oleh biosurfaktan yang dihasilkan. Jenis biosurfaktan dan minyak uji yang digunakan akan mempengaruhi besarnya kemampuan biosurfaktan dalam mengemulsi hidrokarbon tersebut.

3. Tegangan Permukaan

Tegangan permukaan merupakan gaya tarik menarik yang terjadi antara molekul-molekul pada permukaan cairan dengan udara kemudian menggerakkan molekul-molekul menuju bagian pusat cairan dan terbentuklah cairan dengan lapisan tipis. Tegangan antar muka yaitu gaya tarik menarik antara dua fase yang berbeda polaritasnya. Penurunan tegangan permukaan

dapat terjadi akibat gugus hidrofilik menurunkan gaya kohesi dari molekul air (Hargreaves, 2003).

Gaya kohesi yang menurun dapat disebabkan oleh menurunnya nilai tegangan antar muka, namun akan meningkatkan gaya adhesi. Gaya kohesi adalah gaya antar molekul yang bekerja diantara molekul-molekul yang sejenis, sedangkan gaya adhesi gaya antar molekul yang bekerja diantara molekul-molekul yang tidak sejenis (Suryanti *et al.*, 2009). Gaya kohesi yang menurun dapat disebabkan oleh molekul surfaktan yang berlebih dan akan membuat tegangan permukaan semakin menurun. Pada permukaan cairan cenderung menjadi tempat molekul-molekul surfaktan dimana dapat menurunkan jumlah total kerja dalam memperluas permukaan.

Tegangan permukaan dapat diukur dengan beberapa metode sebagai berikut:

a. Metode Cincin *Du Nuoy*

Prinsip metode ini yaitu suatu cairan dimasukkan cincin Pt kemudian diukur gaya yang diperlukan untuk memisahkan cincin dari permukaan cairan.

b. Metode *Drop-Weight*

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

c. Metode Tekanan Maksimum Gelembung

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

d. Metode Kenaikan Pipa Kapiler

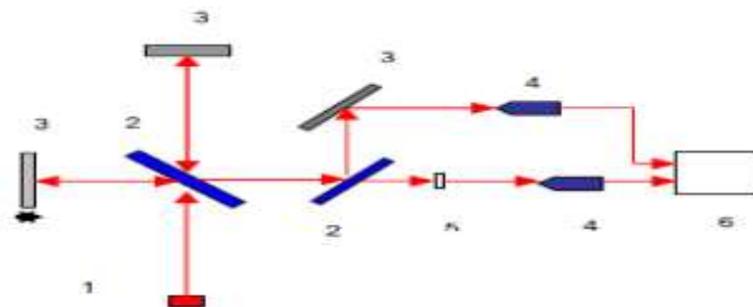
Tegangan muka akan menyebabkan masuknya cairan ke dalam kapiler ketika pipa kapiler tersebut dimasukkan ke dalam cairan yang membasahi dinding. Lapisan tipis yang menutupi kaca tersebut tergantung banyaknya yang tertutupi akan menghasilkan energi paling rendah. Lapisan tipis ini dapat mengarahkan permukaan cairan ke dalam pipa apabila lapisan tipisnya merembet ke atas dinding bagian dalam. Keseimbangan antara

gaya ke atas dan ke bawah akan terjadi jika kenaikan cairan sampai pada suatu tinggi tertentu (Atkins, 2018).

C. *Fourier Transform Infra Red (FT-IR)*

Fourier Transform Infra Red (FT-IR) merupakan metode analisis yang digunakan untuk mengukur gugus fungsi secara cepat tanpa merusak dan mampu menganalisis beberapa komponen secara serentak. Pada dasarnya Spektroskopi FT-IR adalah sama dengan spektroskopi IR dispersi, yang membedakannya adalah pengembangan pada sistem optiknya sebelum berkas sinar infra-merah melewati sampel (Rohaeti *et al.*, 2011).

Frekuensi inframerah biasanya dinyatakan dalam satuan bilangan gelombang (*wavenumber*), yang didefinisikan sebagai banyaknya gelombang per sentimeter. Hanya dalam beberapa menit saja, spektrum inframerah suatu senyawa dapat dengan mudah diperoleh. Sampel senyawa yang diletakkan dalam instrument hanya sedikit kemudian dipancarkan sumber radiasi inframerah. Spektroskopi secara otomatis membaca sejumlah radiasi yang menembus sampel dengan kisaran frekuensi tertentu dan merekam pada kertas berapa persen radiasi yang ditransmisikan. Pita pada spektrum yang muncul merupakan radiasi yang diserap oleh molekul (Hart, 2003). Skema alat spektroskopi FT-IR secara sederhana



ditunjukkan pada Gambar 1.

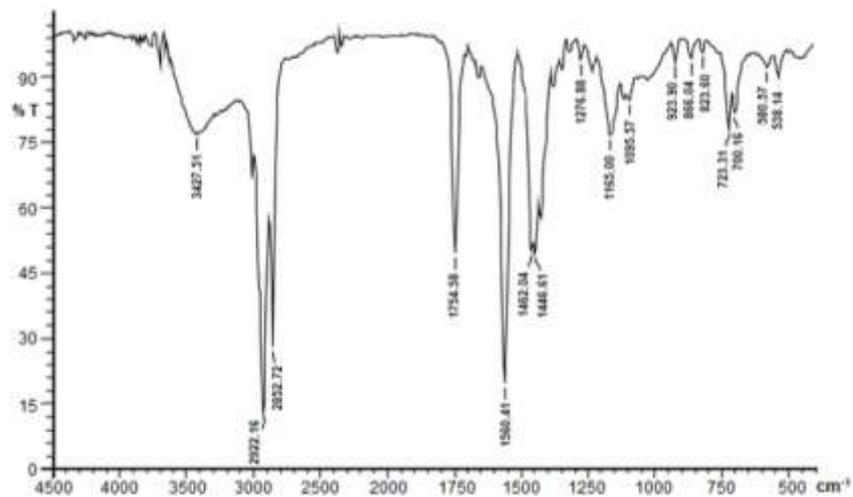
Gambar 1. Skema Alat FT-IR, (1) Sumber Inframerah, (2) Pembagi Berkas, (3) Kaca Pemantul, (4) Sensor Inframerah, (5) sampel, dan (6) Display (Anam *et al.*, 2007).

Prinsip kerja FT-IR adalah energi inframerah diemisikan dari sumber dan berjalan melalui bagian optik dari spektrometer. Gelombang sinar kemudian berjalan melewati interferometer, kemudian sinar tersebut dipisahkan dan digabungkan lagi untuk menghasilkan suatu pola interferensi. Detektor akan mentransmisikan dan mengukur gelombang sinar tersebut (Hart, 2003).

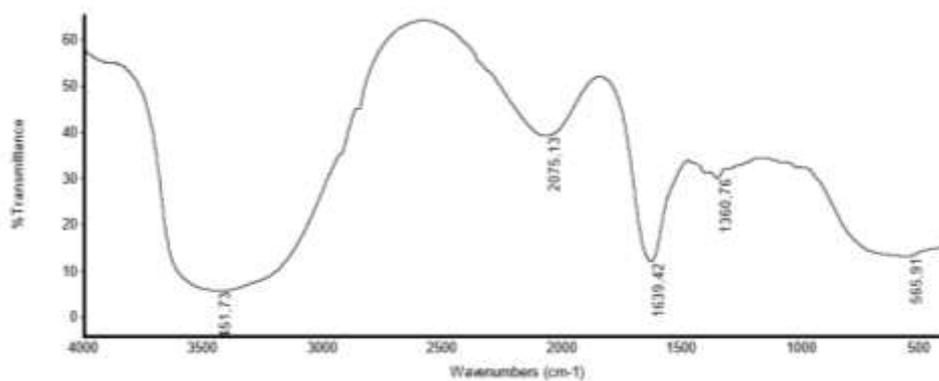
Tabel 2. Frekuensi regangan inframerah untuk beberapa jenis ikatan (Hart, 2003)

Jenis Ikatan	Gugus	Golongan Senyawa	Kisaran frekuensi (cm-1)
Ikatan tunggal dengan hidrogen	C-H	Alkana	2850 – 3000
	=C-H	Alkena dan senyawa aromatik	3030 – 3140
	≡C-H	Alkuna	3300
		Alkohol dan fenol	3500 – 3700(bebas)
	O-H		3200 – 3500 (berikatan hidrogen)
	COOH	Asam karboksilat	2500 – 3000
	N-H	Amina	3200 – 3600
Ikatan rangkap	S-H	Tiol	2550 – 2600
	C=C	Alkena	1600 – 1680
	C=N	Imina, oksim	1500 – 1650
	C=O	Aldehid, keton, ester, asam karboksilat	1650 – 1780
Ikatan rangkap tiga	C≡C	Alkuna	2100 – 2260
	C≡N	Nitril	2200 – 2400

Penelitian oleh Sari *et al.* (2018) menunjukkan hasil karakterisasi biosurfaktan dari *Halomonas meridiana BK-AB4* menggunakan analisis FT-IR berupa data spektrum (Gambar 2). FT-IR dihasilkan bahwa biosurfaktan memiliki gugus -OH, - C-H alifatik C=C, H-C-C dan C=O dalam strukturnya, yang mirip dengan jenis asam lemak biosurfaktan. Nandari *et al.* (2019) menunjukkan data spektrum FT-IR biosurfaktan yang dihasilkan dari alga coklat *Sargassum sp.* (Gambar 4). Hasil FT-IR alga coklat pada grafik terbentuknya ester dapat ditandai dengan adanya puncak serapan pada puncak gelombang sekitar 1735-1750 cm-1 yang merupakan vibrasi C=O dan puncak gelombang 1300-1450 cm-1 yang merupakan vibrasi C-O dari ester. Alga coklat *Sargassum sp.* terbukti dapat digunakan sebagai bahan baku biosurfaktan karena adanya kandungan ester.



Gambar 2. Spektrum FT-IR biosurfaktan oleh bakteri *Halmonas Meridiana BK-AB4* (Sari *et al.*, 2018)



Gambar 3. Spektrum biosurfaktan oleh Alga coklat *Sargassum sp.* (Nandari *et al.*, 2019)

D. Korosi dan Inhibitor Korosi

1. Korosi

Korosi atau pengkaratan dikenal sebagai peristiwa kerusakan logam karena adanya faktor metalurgi (pada material itu sendiri) dan reaksi kimia dengan lingkungannya yang menyebabkan terjadinya penurunan kualitas suatu bahan logam (Hakim, 2012). Bahan-bahan korosif (yang dapat menyebabkan korosi) terdiri atas asam dan garam, seperti asam klorida (HCl) dan natrium klorida

(NaCl) yang digunakan sebagai medium korosif. Korosi tidak dapat dicegah tetapi lajunya dapat dikurangi. Berbagai cara telah dilakukan untuk mengurangi laju korosi, salah satunya dengan pemakaian inhibitor. Sejauh ini penggunaan inhibitor merupakan salah satu cara yang paling efektif untuk mencegah korosi, karena biayanya yang relatif murah dan prosesnya yang sederhana (Oguzie, 2013).

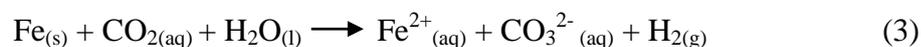
2. Mekanisme Korosi

Mekanisme korosi dapat terjadi karena adanya perpindahan elektron-elektron yang merupakan hasil reaksi redoks (reduksi-oksidasi). Mekanisme korosi dalam elektrokimia melibatkan reaksi anodik di daerah anodik (Mansoori *et al.*, 2018). Sebagai contoh reaksi anodik (oksidasi) pada proses korosi seperti ditampilkan pada beberapa persamaan reaksi berikut:

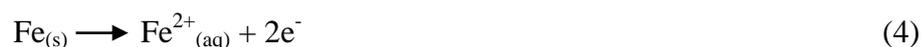


Kedua reaksi tersebut telah menunjukkan bahwa reaksi tersebut dapat terjadi dengan energi potensial yang dihasilkan bernilai positif ($E = 0,84 \text{ Volt}$).

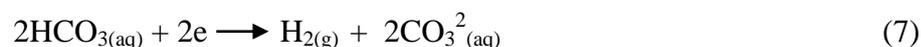
Selain itu, korosi CO_2 juga dapat terjadi dalam industri minyak dan gas. Pada baja karbon, korosi CO_2 terjadi ketika CO_2 larut dalam air dan hidrat menjadi asam karbonat (H_2CO_3). Hal ini dapat mempengaruhi pH larutan dan membentuk spesi katodik untuk bereaksi dengan permukaan pipa logam (Mansoori *et al.*, 2018). Proses elektrokimia pada korosi CO_2 melibatkan disolusi besi anodik dan evolusi katodik hidrogen. Reaksi keseluruhan dapat dinyatakan sebagai berikut:

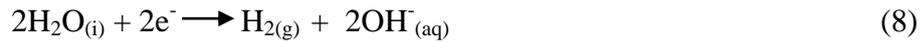


Disolusi besi oksidatif pada reaksi anodik oleh korosi CO_2 dapat dinyatakan pada persamaan 4 (Kahyarin *et al.*, 2016):



Reaksi katodik di lingkungan CO_2 adalah sebagai berikut:





3. Inhibitor Korosi

Inhibitor korosi dapat didefinisikan sebagai suatu zat yang apabila ditambahkan dalam jumlah sedikit ke dalam lingkungan akan memperlambat pembentukan korosi lingkungan terhadap logam. Biasanya proses korosi logam berlangsung secara elektrokimia yang terjadi secara simultan pada daerah anoda dan katoda. Inhibitor biasanya ditambahkan dalam jumlah sedikit, baik secara kontinu maupun periodik menurut suatu selang waktu tertentu. Sudah banyak dikembangkan *green inhibitor* (inhibitor ramah lingkungan) untuk mengatasi masalah korosi pada logam. Hal ini disebabkan *green inhibitor* bersifat non-toksik, murah, sudah tersedia di alam, mudah diperbaharui dan tidak merusak lingkungan. *Green inhibitor* ini biasanya mengandung senyawa organik seperti: asam-asam organik maupun asam-asam amino, dan alkaloid yang diketahui mempunyai kemampuan menghambat korosi (Oguzie, 2013).

Inhibitor korosi bertindak dalam menghambat korosi melalui cara adsorpsi untuk membentuk suatu lapisan tipis dan melalui pengaruh lingkungan (misalnya pH) menyebabkan inhibitor dapat mengendap kemudian teradsorpsi pada permukaan logam sehingga melindunginya dari korosi. Inhibitor korosi pada umumnya berasal dari senyawa organik dan anorganik yang mengandung gugus-gugus yang memiliki pasangan elektron bebas, seperti nitrit, kromat, fosfat dan senyawa-senyawa amina (Wang *et al.*, 2018).

a. Jenis Inhibitor Korosi

Inhibitor yang digunakan dalam menurunkan laju korosi dapat terbagi menjadi dua, yaitu inhibitor anorganik dan inhibitor organik:

1. Inhibitor Anorganik

Inhibitor anorganik terdiri dari beberapa senyawa anorganik seperti kromat, dikromat, fosfat, silikat, borat, molibdat dan arsenat. Senyawa-senyawa dalam

pengaplikasiannya sangat berguna sebagai pelapis korosi, namun inhibitor ini mempunyai kelemahan yaitu bersifat toksik, mahal, dan tidak ramah lingkungan. Inhibitor anorganik mempunyai gugus aktif yang dapat menghambat material logam baik secara anodik maupun katodik (Silva *et al.*, 2019).

2. Inhibitor Organik

Inhibitor organik dapat berasal dari senyawa-senyawa organik yang umumnya mampu membentuk senyawa kompleks. Pada saat membentuk senyawa kompleks diperlukan adanya gugus-gugus fungsi yang mengandung atom-atom yang mampu membentuk ikatan kovalen terkoordinasi, seperti atom hidrogen, belerang dan oksigen pada suatu senyawa tertentu. Selain itu atom O, N, S, dan P juga bertindak sebagai inhibitor korosi karena memiliki elektron yang padat serta kebiasaan yang lebih tinggi. Atom O, N, dan S adalah pusat aktif untuk proses adsorpsi pada permukaan logam. Efisiensi inhibisi mengikuti urutan $O < N < S < P$ (Ilim *et al.*, 2016).

Inhibitor organik akan membentuk lapisan pelindung pada permukaan logam melalui *chemisorption* atau *physisorption*. Mekanisme adsorpsi molekul inhibitor pada permukaan logam secara signifikan akan dipengaruhi oleh struktur molekul inhibitor, keadaan permukaan logam, dan muatan berlebih permukaan logam. Terjadinya adsorpsi permukaan logam dan inhibitor yang membentuk lapisan pelindung pada logam disebabkan adanya elektron yang tak berikatan dalam molekul inhibitor, yang dapat memfasilitasi transfer elektron dari inhibitor dengan logam. Terjadinya transfer elektron dari inhibitor pada permukaan logam menyebabkan terbentuknya ikatan kovalen koordinat (Eduok *et al.*, 2019).

Inhibitor meningkatkan ketahanan korosi dengan:

1. Menurunkan laju reaksi anodik dan katodik
2. Menurunkan laju difusi reaktan ke permukaan logam
3. Meningkatkan tahanan listrik pada permukaan logam (Almeida *et al.*, 2018).

b. Mekanisme Inhibisi Korosi

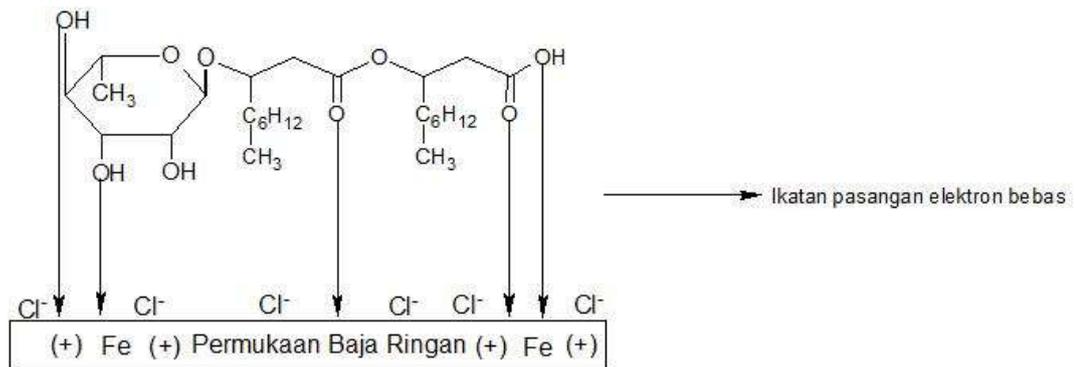
Karakteristik suatu senyawa yang dapat digunakan dalam menghambat korosi yakni mengandung atom oksigen (O), sulfur (S), dan nitrogen (N) serta senyawa heterosiklik dan elektron π . Biasanya gugus fungsi dianggap sebagai pusat reaksi dalam pembentukan proses adsorpsi suatu senyawa pada permukaan logam.

Mekanisme adsorpsi dapat terjadi melalui 4 cara, yakni (Stiadi *et al.*, 2019):

- (1). Daya tarik elektrostatis antara molekul bermuatan dan logam bermuatan
- (2). Interaksi pasangan elektron tak bermuatan dalam molekul logam
- (3). Interaksi dari elektron- π dengan logam
- (4). Kombinasi dari cara (1) dan (3)

Mekanisme inhibisi korosi oleh senyawa organik tergantung pada struktur dan gugus fungsi yang dimiliki senyawa organik tersebut, sifat logam yang mengalami korosi dan medium korosif yang berkontak dengan logam. Adsorpsi pada permukaan baja ringan terjadi melalui interaksi pusat aktif atau gugus yang dimiliki inhibitor dan bergantung pada rapat muatannya. Pada medium korosif seperti asam klorida, baja ringan dapat mengalami oksidasi dan menghasilkan Fe^{2+} . Ion besi(II) ini dapat berinteraksi dengan inhibitor yang berada dalam medium korosif melalui pembentukan senyawa kompleks (Stiadi *et al.*, 2019)

Biosurfaktan jenis rhamnolipid sebagai inhibitor korosi dalam medium korosif sebagai contoh asam klorida memungkinkan terbentuknya ikatan pasangan elektron bebas (**Gambar 4**) dan dapat teradsorpsi secara kimia di permukaan baja ringan maupun baja karbon. Umumnya gugus fungsi yang terdapat pada biosurfaktan jenis rhamnolipid mengandung atom oksigen yang merupakan syarat untuk dapat bertindak sebagai inhibitor korosi (Stiadi *et al.*, 2019).



Gambar 4. Diagram skematis mekanisme adsorpsi biosurfaktan jenis rhamnolipid pada permukaan baja ringan (Stiadi *et al.*, 2019)

4. Penentuan Laju Korosi

Pengujian inhibitor korosi dilakukan dengan penentuan laju korosi. Laju korosi dapat ditentukan dengan metode kehilangan berat (*wheel test*). Metode kehilangan berat merupakan metode secara langsung dengan menghitung berat yang terjadi selama proses korosi dan digunakan untuk melihat suatu laju korosi. Pada metode ini menunjukkan persamaan antara laju korosi terhadap waktu perendaman yang merupakan persentase inhibisi inhibitor yang dapat disusun berdasarkan indikasi dari hambatan polarisasinya, serta urutan kemampuan masing-masing inhibitor ketika terserang pada permukaan logam. Setelah itu data yang diperoleh digunakan untuk menghitung kehilangan berat dan laju korosi dengan menggunakan rumus pada Persamaan 1 dan 2 (Ilim, 2017).

$$W = W_{(i)} - W_{(t)} \quad (1)$$

$$CR = \frac{10 \cdot W \cdot 365}{A \cdot D \cdot t} \quad (2)$$

$$\%P = \frac{(CR_o - CR_i)}{CR_o} \times 100\% \quad (3)$$

Keterangan:

CR = laju korosi (mmth^{-1})

W = berat (gram), yaitu antara berat awal dikurang dengan berat akhir

(Persamaan 1)

A = luas sampel (cm^2)

D = density (gram/cm^3) = $7,86 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$

t = waktu (hari)

Untuk menghitung persentase proteksi dari inhibitor yang digunakan dengan menggunakan (Persamaan 3)

$\%P$ = % proteksi inhibisi

Cr_0 = laju korosi tanpa inhibitor

CR_i = laju korosi dengan inhibitor

E. Scanning Electron Microscopy (SEM)

SEM merupakan mikroskop elektron yang digunakan untuk memindai gambar permukaan suatu sampel dengan menggunakan sinar elektron berenergi tinggi dalam pola pemindai picel (Wei *et al.*, 2018). SEM dapat digunakan dalam mempelajari atau mengamati rincian bentuk maupun struktur mikro, topografi, morfologi permukaan dari suatu objek, seperti bahan logam dan polimer keramik yang tidak dapat dilihat dengan mata atau dengan mikroskop optik.

Prinsip kerja SEM yakni dengan mengalirkan arus pada kawat filamen tersebut dan adanya perlakuan pemanasan sehingga elektron dihasilkan. Elektron tersebut dikumpulkan dengan tegangan tinggi dan berkas elektron difokuskan dengan sederetan lensa elektromagnetik (Mendili *et al.*, 2014). Berkas elektron yang mengenai target akan dikumpulkan melalui tabung sinar katoda dengan mengatur intensitasnya. Setiap jumlah sinar yang dihasilkan dari tabung sinar katoda dihubungkan dengan jumlah target, elektron akan kehilangan energi ketika terkena berkas elektron berenergi tinggi dan menembus permukaan target akibat ionisasi atom. Elektron bebas ini tersebar keluar dari aliran sinar utama, membentuk lebih banyak elektron bebas yang kemudian energinya akan habis lalu melepaskan diri dari target. Elektron ini dialirkan ke unit demagnifikasi dan dideteksi oleh detektor dan selanjutnya dicatat sebagai suatu foto. SEM bisa

digabungkan dengan *energy dispersive spectroscopy* (EDS) untuk menentukan komposisi kimia dari spesimen yang digunakan (Li *et al.*, 2014).

III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2022 sampai dengan bulan Februari 2023 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Uji Karakterisasi Biosurfaktan menggunakan FT-IR dilakukan di Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung.

B. Alat Dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah gelas kimia, erlenmeyer, cawan petri, tabung sentrifugasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pipet tetes, *freezer*, *autoclave* model S-90N, *shaker incubator*, inkubator, *Laminar Air Flow* (LAF) Curma model 9005-FL, jarum ose, neraca analitik Ainsworth AA160, sentrifuga model 225 Fisher Scientific, pH meter Metrohm Mobile 826, vortex, *hotplate*, bunsen, spatula, *magnetic stirrer*, oven, gelas ukur, labu ukur, mikropipet Eppendorff, amples dengan ukuran 200; 400; 600; 800; dan 1000, dan spektroskopi FT-IR.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri lokal PKT B3 (Hijrianto, 2019), minyak zaitun, kapas, alumunium foil, kasa, oli bekas, *nutrient agar*, *nutrient broth*, akuades, urea, NH_4Cl , NaOH , HCl 1N, HCl 6N, n-heksana, benzena, oli bekas, oli baru, metanol, etanol, gas CO_2 , larutan medium korosif NaCl 3%, *Clarke's solution*, serta media MSM (*Mineral Salt Medium*) antara lain KH_2PO_4 ; K_2HPO_4 ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; NaCl ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; *yeast extract*; dan glukosa, baja atau logam.

C. Prosedur Penelitian

1. Tahap Persiapan

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

2. Pembuatan Media

a. Media NA (*Nutrient Agar*)

Media *Nutrient Agar* digunakan untuk meremajakan isolat bakteri PKT B3. Media ini dibuat dengan cara melarutkan 2,8 gram NA dalam 100 mL akuades. Selanjutnya media dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup dengan sumbat. Kemudian media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu tabung reaksi berisi media diletakkan dalam posisi miring.

b. Media NB (*Nutrient Broth*)

Media *Nutrient Broth* merupakan media yang digunakan sebagai media inokulum atau adaptasi bakteri. Media ini dibuat dengan cara melarutkan 1,3 gram NB dalam 100 mL aquades lalu dipanaskan hingga mendidih. Kemudian ditutup dengan sumbat dan media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121 °C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, media disimpan dalam *laminar air flow* dan siap untuk digunakan.

c. Media MSM (*Mineral Salt Medium*)

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

3. Peremajaan Isolat Bakteri Lokal PKT B3

Peremajaan isolat bakteri ini dilakukan untuk menjaga nutrisi isolat bakteri yang digunakan sebagai stok kultur untuk menguji bakteri lokal dan PKT B3 yang berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan serta optimasi produksi biosurfaktan. Peremajaan ini dilakukan pada media nutrient agar miring. Sebanyak 1 ose isolat bakteri lokal PKT B3 diinokulasikan ke permukaan media secara zig-zag kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37 °C. Setelah itu biakan hasil peremajaan siap digunakan sebagai stok kultur dan disimpan didalam lemari pendingin 4 °C (Kalyani *et al.*, 2014).

4. Uji Biosurfaktan

Uji biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri PKT B3 yang digunakan dalam menghasilkan biosurfaktan. Uji ini dilakukan dengan beberapa cara antara lain dengan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse*.

a. Uji Emulsifikasi

Uji emulsifikasi merupakan uji untuk mengetahui bakteri yang memiliki aktivitas biosurfaktan. Uji dilakukan dengan cara kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Selanjutnya sebanyak 2 mL supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL benzena sebagai substrat non polar pembentuk emulsi. Campuran tersebut divorteks dengan kecepatan tinggi selama 2 menit kemudian didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam dan diukur tinggi emulsinya (Pereira *et al.*, 2013). Indeks emulsifikasi (%) ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks emulsifikasi (\%)} = \frac{\text{tinggi lapisan teremulsi (cm)}}{\text{tinggi total cairan (cm)}} \times 100\% \quad (1)$$

b. Uji Oil Spreading

Uji *oil spreading* digunakan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dari bakteri yang diuji dengan mengamati kemampuan bakteri dalam menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air. Sebelum melakukan uji kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Uji dilakukan dengan cara sebanyak 40 mL aquades dimasukkan ke dalam cawan petri pada tempat yang datar, kemudian ditambahkan 100 mL oli bekas. Setelah itu dimasukkan secara perlahan 10 μ L supernatan kultur pada tengah lapisan oli bekas. Uji positif dapat teramati apabila terjadi zona bening akibat penyisihan lapisan oli bekas oleh biosurfaktan (Lee *et al.*, 2018).

c. Uji Drop Collapse

Drop collapse test dilakukan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan. Sebelum melakukan uji, kultur bakteri disentrifius dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga didapatkan supernatan. Uji ini dilakukan dengan meneteskan 20 μ L minyak pelumas pada permukaan kaca (bersih) dan didiamkan selama 1 jam agar stabil. Selanjutnya, di atas tetesan minyak ditetesi supernatan sebanyak 10

μ L. Tetesan supernatan di atas minyak akan berbentuk datar jika mengandung biosurfaktan (Fatimah, 2007).

5. Optimasi Sumber Nitrogen

Optimasi produksi yang dilakukan untuk menentukan sumber nitrogen terbaik dengan menggunakan sumber karbon, pH, dan kadar salinitas optimum yang telah didapatkan sebelumnya, kemudian dilanjutkan dengan uji biosurfaktan.

Penentuan sumber nitrogen terbaik dilakukan menggunakan 2 variasi sumber nitrogen yaitu urea dan NH_4Cl . Optimasi sumber nitrogen dilakukan dengan cara hasil biakan isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam media MSM dan 1% ke dalam campuran media MSM dengan 2% sumber karbon minyak zaitun, sumber nitrogen NH_4Cl 0,3% dan 0,5 %, serta sumber nitrogen urea 0,3% dan 0,5% pada pH 6 serta kadar salinitas sebesar 5%. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama 120 jam (waktu optimum yang telah didapatkan). Kemudian dilakukan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Rosi, 2020).

6. Produksi Biosurfaktan

Produksi biosurfaktan dilakukan pada kondisi optimum yang telah diperoleh sebelumnya. Media fermentasi hasil kondisi optimum disentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dari peletnya dan kemudian diekstraksi untuk memperoleh biosurfaktan yang lebih murni (Lee *et al.*, 2018).

7. Ekstraksi Biosurfaktan

Biosurfaktan diekstraksi menggunakan metode presipitasi asam. Cara yang dilakukan yaitu membuat pH supernatan bebas sel menjadi pH 2 dengan menambahkan HCl 6N. Supernatan tersebut dibiarkan mengendap selama 24 jam

pada suhu 4°C. Endapan tersebut kemudian dikumpulkan dengan mensentrifugasi pada kecepatan 10000 rpm selama 10 menit pada 4°C. *Crude* biosurfaktan yang terbentuk dikeringkan dalam oven pada suhu 110°C selama 24 jam dan ditimbang (Lee *et al.*, 2018). Selanjutnya digunakan pada karakterisasi biosurfaktan.

8. Karakterisasi Biosurfaktan

Biosurfaktan hasil *recovery* ditambah dengan nujol mull dan dioleskan pada preparat kemudian dianalisa dengan spektroskopi FT-IR untuk mengetahui gugus-gugus fungsi yang ada dalam biosurfaktan menggunakan panjang gelombang tertentu (Batool *et al.*, 2017).

9. Uji Inhibisi Korosi

a. Pembuatan larutan medium korosif

Medium korosif yang digunakan adalah NaCl 3% dengan menyiapkan NaCl 30 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu takar 1000 mL, ditambahkan aquades sampai tanda terra dan dihomogenkan.

b. Pembuatan larutan induk inhibitor

Larutan induk inhibitor dibuat dengan konsentrasi 10.000 ppm. Biosurfaktan sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan metanol dalam labu ukur 50 mL.

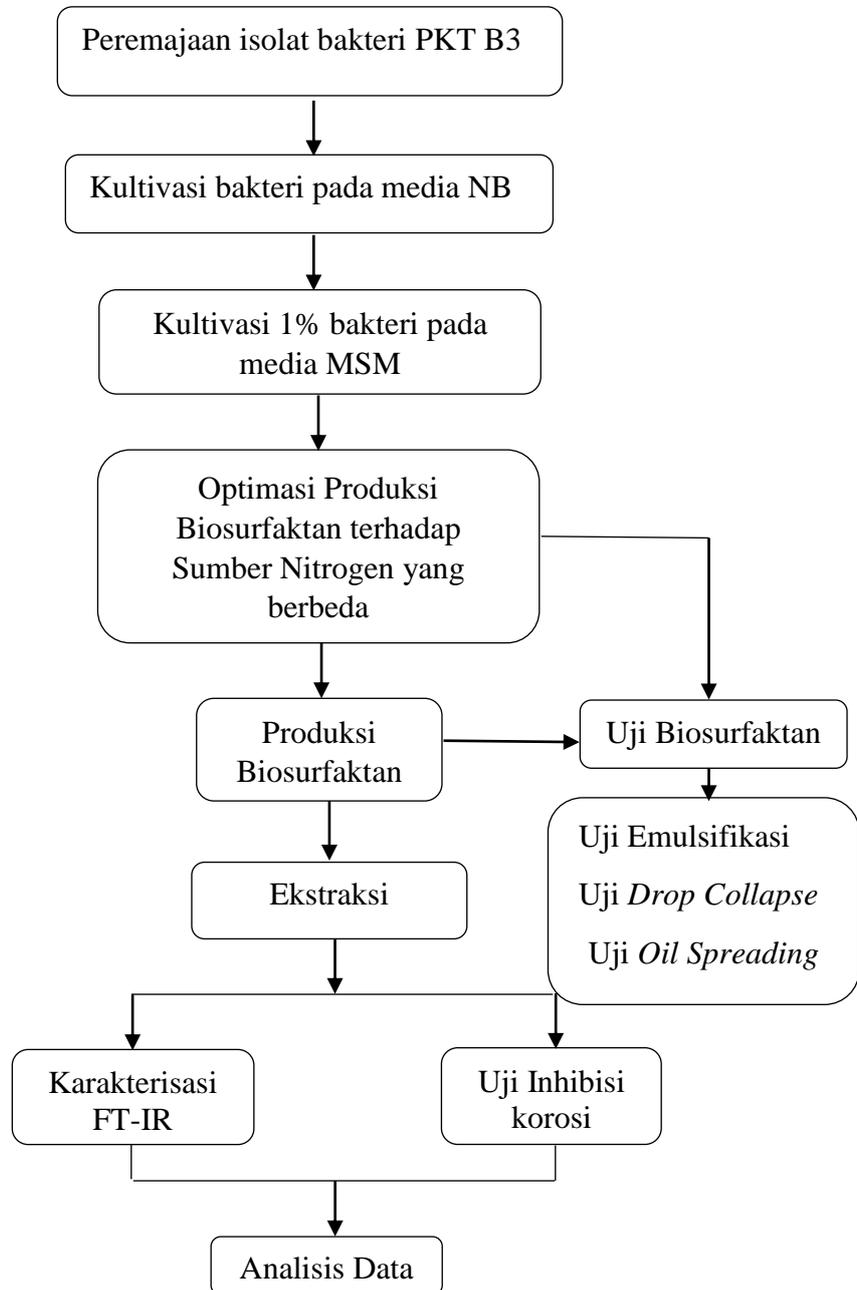
c. Penentuan laju korosi

Penentuan laju korosi dari senyawa yang diuji sebagai inhibitor korosi dalam penelitian ini dilakukan dengan metode kehilangan berat atau *wheel test*. Analisis uji korosi dilakukan dengan merendamkan logam atau baja yang sudah diampelas sebelumnya kemudian di ukur luasnya dan ditimbang massanya. Larutan medium korosif NaCl 3% dimasukkan ke dalam 5 botol masing-masing 100 mL, kemudian ditambahkan biosurfaktan sebagai inhibitor dengan variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm. Selanjutnya pada medium NaCl 3% yang

dijenuhkan dengan gas CO₂, larutan dimasukkan ke dalam 5 botol masing-masing 100 mL, larutan inhibitor dimasukkan ke dalam botol gelas dengan variasi konsentrasi 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm dan 150 ppm sambil dialiri gas CO₂ selama 45 menit. Baja yang sudah diketahui luas permukaan dan massanya dimasukkan ke dalam masing-masing botol gelas. Aliran gas CO₂ dihentikan, botol gelas ditutup dengan penutup botol dan diupayakan tidak ada oksigen yang masuk ke dalam botol. Baja direndam selama 24 jam. Setelah waktu korosi tercapai, sampel baja dicuci dengan *Clarke's solution*, dicuci dengan aquades lalu dibilas dengan etanol, kemudian dikeringkan dan ditimbang kembali. Selanjutnya dilakukan perhitungan laju korosi dengan menggunakan persamaan 1 sampai dengan 3 (halaman 26) (Ilim, 2017):

D. Bagan Alir Penelitian

Bagan alir penelitian dapat dilihat pada **Gambar 5**



Gambar 5. Bagan alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 dapat memanfaatkan sumber nitrogen NH_4Cl sebanyak 0,5% dalam meningkatkan perolehan biosurfaktan dengan nilai indeks emulsi sebesar 72,5%, uji *oil spreading* 7,0 mm, dan uji *drop collapse* bernilai positif.
2. Biosurfaktan yang telah diproduksi oleh isolat *Bacillus oceanisediminis* PKT B3 diperoleh sebanyak 0,0559 g/L dengan warna putih kekuningan dan Berdasarkan analisis FT-IR, biosurfaktan yang diperoleh termasuk kelompok lipopeptida.
3. Uji inhibisi korosi menggunakan metode *wheel test* menunjukkan penambahan biosurfaktan dalam medium korosif NaCl 3% dapat menghambat laju korosi dengan nilai persen proteksi tertinggi ada pada konsentrasi 150 ppm yaitu sebesar 92,24%.
4. Uji inhibisi korosi menggunakan metode *wheel test* menunjukkan penambahan biosurfaktan dalam medium korosif NaCl 3% jenuh CO_2 dapat menghambat laju korosi dengan nilai persen proteksi tertinggi ada pada konsentrasi 150 ppm yaitu sebesar 53,57%.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, pada penelitian selanjutnya disarankan:

1. Melakukan analisis biosurfaktan menggunakan GC-MS dan KLT.
2. Melakukan karakterisasi SEM-EDS pada uji inhibisi korosi agar dapat diketahui lebih jelas struktur permukaan pada baja yang telah dilakukan uji.

DAFTAR PUSTAKA

- Admin. 2012. *Minyak Zaitun: Sehat dan Panjang Umur*. Artikel Harbal. Depok.
- Almeida, T. C., M. C.E. Bandeira, R. M. Moreira, and O. R. Mattos. 2018. Discussion on Electrochemistry of CO₂ Corrosion of Mild Steel: Effect of CO₂ on Iron Dissolution Reaction. *Corrosion Science* **133**: 417–22.
- Atkins, P. W. 2018. *Kimia Fisika Edisi keempat Jilid 1*. Erlangga. Jakarta.
- Banat, I. M., Franzeti, A., Bestetti, I., Martinotti, M. G., Fracchia, L., Smyth, T. J., and Marchant, R. 2010. Microbial Biosurfactants Production, Application and Future Potential. *J. Appl Microbiol and Biotechnol.* **87**(2): 427-444.
- Batool., R., Ayub, S., and Akbar, I. 2017. Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria from Petroleum Contaminated Sites and their Characterization. *Journal Article Soil Environ.* **36**(1): 35-44.
- Budiarti, R. S. 2000. Optimasi Konsentrasi *Crude Oil* dan Sumber Nitrogen pada Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik. *Tesis*. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Carillo, GG., Mardaraz, C, Pitta –Alfarez, Guiliettu, AM., 1996. Isolation and Selection of Biosurfactant Producing Bacteria. *Word J Microbiol and Biotechnol.* **12**: 82–84.
- Dagbert,C., Meylheuc,T., Bellon-Fontaine,M.N. 2006. Corrosion Behavior of AISI304 Stainless Steel in Presence of Biosurfactant Produced by *Pseudomonas fluorescens*. *Electrochem.* **51**: 5221-5227.
- Dange, S.S., Gulve, R.M., Deshmukh, R.B., Jadhav, P.V., Marathe, R.J., Phatake, Y.B., and Dange, S.R. 2020. Biosurfactant: Process Optimization by Classical One Parameter at a Time Approach. *Research Journal of Biotechnology.* **15** (9): 141-147.
- Das P, S., Mukherjee., and Sen, R. 2008. Antimicrobial Potential of a Lipopeptide Biosurfactant Derived from a Marine *Bacillus circulans*. *J. Appl Microbiol.* **104**: 1675-1684.
- Dave, N. dan Joshi, T. 2017. A Concise Review on Surfactant and Its Significance. *International Journal of Applied Chemistry.* **13**(3): 663-672.

- Eduok, U., Enyinnaya, O., and Jerzy, S. 2019. *Accelerated Corrosion of Pipeline Steel in the Presence of Desulfovibrio Desulfuricans Biofilm Due to Carbon Source Deprivation in CO₂ Saturated Medium*. Materials Science and Engineering. C 105.
- Fakhruddin, M.D. 2012. Biosurfactant: Production and Application. *J Pet Environ Biotechnol.* **3**(4): 1-5.
- Fatimah. 2007. Uji Produksi Biosurfaktan oleh *Pseudomonas sp.* Pada Substrat yang Berbeda. *Berkala Penelitian Hayati.* **12**: 181-185.
- Franzetti, A., Issabella, G., Giuseppine, B., dan Ibrahim, M.B. 2010. Biosurfactant and Bioremediation Successes and Failures. *Trend in Bioremediation and Phytoremediation*: 145-156 . ISBN: 978-81-308-0424-8.
- Gudina, E. J., Rocha, V., Teixeira, J. A., and Rodrigues, L. R. 2011. Antimicrobial and Antiadhesive Properties of a Biosurfactant Isolated from *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei* A20. *Lett App Microbial.* **50**(4): 41424.
- Gudina, E. J., Rodrigues, A.L., de Freitas, V., Azevedo, Z., Teixeira, J.A., Rodrigues, L.R. 2016. Valorization of Agroindustrial Wastes Towards The Production of Rhamnolipids. *Bioresour. Technol.* **212**: 144-150.
- Gautam, K.K and V.K. Tyagi. 2006. Microbial Surfactants: A Review. *J. Oleo Sci.* **55**(4): 155-166.
- Hakim, A. R. 2012. Analisa Korosi Atmosfer pada Material Baja Karbon-Sedang. *Skripsi*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Hart, H., craine, L.E. and Hart. D.J. 2003. *Kimia Organik Edisi Kesebelas*. Erlangga. Jakarta.
- Hargreaves, T. 2003. *Chemical Formulation: An Overview of Surfactant-Based Preparations Used In Everyday Life*. Cambridge : RSC Paperbacks.
- Hoskova, M., Schreiberova, O., Jezdik, R., Chudoba, J., Masak, J., Sigler, K., Rezanka, T. 2013. Characterization of Rhamnolipids Produced by non-pathogenic Acinetobacter and Enterobacter bacteria. *Bioresour. Technol.* **130**: 510-516.
- Ilim, Jefferson, A., Simanjuntak, W., Jeannin, M., Syah, Y. M., Bundjali, B., and Buchari. 2016. Synthesis and Characterization of Oligomer 4-Vinylpyridine as a Corrosion Inhibitor for Mild Steel in CO₂ Saturated Brine Solution. *Indonesian Journal of Chemistry.* **16**(2): 198–207.

- Ilim. 2017. Oligomer 4-Vinilpiridin sebagai Inhibitor Korosi Baja Lunak dalam Larutan NaCl 3% Jenuh dengan Karbon Dioksida. *Disertasi*. Institut Teknologi Bandung.
- Javed, S., Faisal, M., Raza. Z. A., Rehman, A., and Shahid, M. 2021. Isolation and Characterization of Indigenous Biosurfactant producing *Bacillus* and *Staphylococcus* SPP. During Motor Oil Degradation. *Applied Ecology and Environmental Research* **20**(1): 79-102,
- Kalyani, A. L., Naga, S. T., Sangkar, G. G., and Prabhakar, T. 2014. Isolation and Antimicrobial Activity of Rhamnolipid Biosurfactant from Oil Contaminated Soil Sample Using Humic Acid Salts Vitamin Agar. *J. of Research in Eng and Techn.* **3**:357- 364.
- Kahyarin, A., Singer, M., and Nesic, S. 2016. Modeling of Uniform CO₂ Corrosion of Mild Steel in Gas Transportation System. *Journal of Natural Gas Science and Engineering.* **29**: 530-549.
- Khumaidah, N., Suka, E.D., dan Syafriadi. 2019. Inhibisi Korosi Ekstrak Buah Pinang (ARECA CATECHU L.) Sebagai Penghambat Laju Korosi Pada Baja Karbon Rendah C-Mn Steel dengan Medium Korosif HCl dan NaCl. *Jurnal Teori dan Aplikasi Fisika.* **7** (1).
- Kuswedari, P. 2020. Optimasi Produksi Biosurfaktan Dari Bakteri Isolat Lokal LKT B1 Dan PKT B3 Dengan Variasi Sumber Karbon. *Laporan PKL*. Universitas Lampung.
- Li, J. L., Ma, H. X., Zhu, S.D., Qu, C.T., and Yin, Z. F. 2014. Erosion Resistance of CO₂ Corrosion Scales Formed on API P110 Carbon Steel. *Corrosion Science* **86**: 101–7.
- Malik, M., Hashim, M.A., Nabi, M.A., Al-thabaiti, F., Ahmed, S. 2011. Anti-Corrosion Ability of Surfactants : A Review. *Journal Article.* **6**: 1927-1948.
- Makkar, R. S., Cameotra, S. S., and Banat, M. I. 2011. Advances in Utilization of Renewable Substrates for Biosurfactant Production. *Springer Open Journal.* **1**:5.
- Mansoori, H., Young, D., Brown, B., and Singer, M. 2018. Influence of Calcium and Magnesium Ions on CO₂ Corrosion of Carbon Steel in Oil and Gas Production System. *Journal of Natural GA Science and Engineering.* **59**:287-296.
- Mendili, Y. E., Abdelouas, A., Ait Chaou, A., Bardeau, J.F., and Schlegel, M.L. 2014. Carbon Steel Corrosion in Clay-Rich Environment. *Corrosion Science* **88**: 56–65.

- Moussa, T. A. A., Ahmed, G. M., and Abdel, H. S. M. S. 2006. Optimization of Cultural Conditions for Biosurfactant Production From *Nocardia amarae*. *Journal of Applied Sciences Research*. **2**(11): 844-850.
- Moussa, T. A. A. Mohamed, M.S., Samak, N. 2014. Production And Characterization of Di-Rhamnolipid Produced by *Pseudomonas aeruginosa* TMN. *Braz. J. Chem. Eng.* **31**(4): 867-880.
- Moya, R.I., Tsaousi, K., Rudden, M., Marchant, R., Slameda, E.J., Garcia, R.M., Banat, I.M. 2015. Rhamnolipid and Surfactin Production from Olive Oil Mill Waste as Sole Carbon Source. *Bioresour: Technol.* **198**: 231-236.
- Nandari, W.W., Mahreni, Ningrum, P.B., Fauziyen, S.P. 2019. Pembuatan Biosurfaktan dari Alga Coklat *Sargassum sp* sebagai Corrosion Inhibitor. *Jurnal Teknik Kimia* : 2.
- Nishanthi Rajendran, K.S.B., Sobana P.P, V. Logeswari, Kathiresan E, Tamilselvi A, and John V.S. 2014. Phytochemicals, Antimicrobial and Antioxidant Screening from Five Different Marine Microalgae *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. **2**: p. 78.
- Oguzie, E. 2013. Corrosion Inhibition of Aluminium in Acidec and Alkaline media by *Sansevieria trifas-ciata* extract. *Corros. Scince*, **49**: 402–417.
- 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.
- Rohaeti E, Heryant R, Rafi M, Wahyuningrum A, dan Darusman LK. 2011. Prediksi kadar flavonoid total tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) menggunakan kombinasi spektroskopi IR dengan regresi kuadrat terkecil parsial. *Jurnal Kimia*. **5**(2).
- Rosi, R. M. 2020. Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen *Bacillus sp.* PKT D4 dengan Variasi Sumber Nitrogen. *Laporan PKL*. Universitas Lampung.
- Sahara, B. S., Sahu, S. K., and Sharma, D. 2011. An Overview on Biosurfactants. *J. Genetic Engineering and Biotechnology*. **20**(2): 29-32.
- Sandri, D. 2009. Bakteri Hidrokarbonalklastik Tanah Tercemar Penghasil Biosurfaktan: Skrining dan Identifikasi Bakteri, Optimasi Produksi dan Karakterisasi Produknya. (Tesis). Universitas Brawijaya. Malang.
- Sari, D.M., Handani, S., Yetri., Y. 2013. Pengendalian Laju Korosi Baja St-37 dalam Medium Asam Klorida dan Natrium Klorida Menggunakan Inhibitor Ekstrak Daun Teh (*Camelia Sinensis*). *Jurnal Fisika Unand*. **2**(3): 204-211.

- Sari, I.P., Basyiruddin, M.I., Hertadi, R. 2018. Bioconversion of Palm Oil into Biosurfactant by *Halomonas Meridiana BK-AB4* for the Application of Corrosion Inhibitor. *J. Chem.* **18** (4): 718-723.
- Setiani, N.A., Agustina, N., Mardiah, I., Hamdani, S., dan astriany, D. 2020. Potensi *Bacillus cereus* dalam Produksi Biosurfaktan. *Jurnal Biologi Udayana.* **24**(2): 145-141.
- Septihanny, R.K. dan Moentamaria, D. 2020. Telaah Pustaka: Pembuatan Biosurfaktan Menggunakan Minyak Jelantah Oleh Bakteri *Bacillus subtilis*. *Distilat Jurnal Teknologi Separasi.* **6** (2): 504-511.
- Shaban, S.M., Kang, J., dan Kim, D.H. 2020. Surfactant: Recent Advances and Their Applications. *Composites Communications.* 1-40.
- Signh, V. 2012. Biosurfactant – Isolation, Production, Purification and Significance. *Int J Sci Res Pub.* **2**(7): 1-4.
- Silva, R. C., Melissa, H., Gabriel, A., Lorenzi, Demétrius, W., Lima, Joao, H.L.M., Jamili, M., Freitas, Emilse, M.A., Martini, and Cesar, L. P. 2019. Carbon Steel Corrosion Controlled by Vegetable Polyol Phosphate, in Medium Containing Chloride and Glyoxal: Influence of Phosphate Content and CO₂. *J. Heliyon* **5**(5).
- Souza, K.S.T., Gudina, E.J., Schwan, R.F., Rodrigues, L.R., Dias, K.S., dan Teixeira, J.A. 2018. Improvement of Biosurfactant Production By *Wickerhamomyces anomalus* CCMA 0358 and Its Potential Application In Bioremediation. *J. Hazardous Material.* **346**: 152-158.
- Souza, E.C., Vessone-Penna, T.C., Oliveira, R.P.D.S. 2014. Biosurfactant-Enhanced Hydrocarbon Bioremediation: an overview. *Int. Biodeterior. Biodegradation.* **89**: 88-94.
- Stiadi, Y., Arief, S. Aziz, H., Efdi, M., dan Emriadi. 2019. Inhibisi Korosi Baja Ringan Menggunakan Bahan Alami dalam Medium Asam Klorida: Review. *Jurnal Riset Kimia.* **10**(1): 61-64.
- Sun, W., Zhu, B., Yang, F., Dai, M., Sehar, S., Peng, C., Ali, I., Naz, I., Optimization of Biosurfactant Production From *Pseudomonas Sp. CQ2* and Its Application For Remediation of Heavy Metal Contaminated Soil, *Chemosphere.* 1-46.
- Suryanti, V., Hastuti, S., Wahyuningsih, T. D., dan Mudasir, Muliawati, D. I. 2009. Biosurfactants Production by *Pseudomonas aeruginosa* Using Soybean Oil as Substrate. *Indonesian Journal Chemistry.* **9**(1): 107-112.

- Utami, D.S., Priyani N., Erman M. 2013. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Tanah Pertanian Berastagi Sumatera Utara dalam Mendegradasi Fungisida Antracol Berbahan Aktif Propineb. *Saintia Biologi*. **1**(2): 1-7.
- Varjani, S.J. Rana, D.P., Bateja, S., Upasani, V.N. 2013. Isolation and Screening For Hydrocarbon Utilizing Bacteria (HUB) from Petroleum Samples. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **2**(4):48-60.
- Varjani, S.J. Rana, D.P., Bateja, S., Sharma, M.C., Upasani, V.N. 2014. Screening and Identification of Biosurfactant (Bioemulsifier) Producing Bacteria from Crude Oil Contaminated Sites of Gujarat, India. *Int. J. Innovative Res. Sci. Eng. Technol.* **3**(2):9205-9213.
- Varjani, S.J. Rana, D.P., Bateja, S., Jain, A.K., Upasani, V.N. 2015. Synergistic Ex-Situ Biodegradation of Crude Oil By Halotolerant Bacterial Consortium of Indigenous Strains Isolated From on Shore Sites of Gujarat, India. *Int. Biodeterior. Biodegradation*. **103**:116-124.
- Varjani, S.J. 2017. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons. *Bioresour. Technol.* **223**:277-286.
- Wang, Bei, Lining, X., Guozhang, L., and Minxu, L. 2018. Corrosion Behavior and Mechanism of 3Cr Steel in CO₂ Environment with Various Ca²⁺ Concentration. *Corrosion Science* **136** : 210–20
- Walter, V., Sylatk, C. dan Hausmann, R. 2010. *Screening Concepts for The Isolation of Biosurfactant Producing Microorganisms*. *Adv. Exp. Med. Biol.* **672**:1-13.
- Wei, Liang, Xiaolu, P, and Kewei, G. 2018. Effect of Flow Rate on Localized Corrosion of X70 Steel in Supercritical CO₂ Environments. *Corrosion Science*. **111**: 637–648.
- Indrianti, W. 2022. Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Isolat Lokal BSPP-4 Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang dan Uji Potensu Antibakteri. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Yan, P., Lu, M., Yang, Q., Zhang, H., Zhang, Z., Chen, R. 2012. Oil Recovery from Refinery Oily Sludge Using a Rhamnolipid Biosurfactant-Producing *Pseudomonas*. *Bioresour. Technol.* **116**:24-28
- Yuliana, C., Hertadi, R., dan Wahyuningrum, D. 2019. Produksi dan Optimasi Biosurfaktan dari Bakteri Halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18. *Cheesa: Chemical Engineering Research Article*. **2** (2):56-65.
- Zin, I.M., Pokhmura'kyi, V.I., Karpenko, O.V., Tymus, M.B., Veselivs'ka, H.H. 2014. Inhibiting Action of Biogenic Surfactant in Corrosive Media. *Mater Sci*. **50**: 448-453.