

# Manfaat Surfaktan dari Bakteri Laut Hidrokarbonoklastik untuk Akselerator Proses Hidrokarbon Minyak Bumi

Durrotun Najiyah<sup>1)</sup>, Nuning Vita Hidayati<sup>1)</sup> dan Cut Nanda Sari<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Jurusan Perikanan dan Kelautan, Fakultas Sains dan Teknik Universitas Jenderal Soedirman

<sup>2)</sup>Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Minyak dan Gas Bumi "LEMIGAS"

Jl. Ciledug Raya Kav. 109, Cipulir, Kebayoran Lama, Jakarta Selatan

Telepon: 62-21-7394422, Fax: 62-21-7246150

Email: cutnanda@lemigas.esdm.go.id

Teregistrasi I tanggal 16 Mei 2013; Diterima setelah perbaikan tanggal 10 Juli 2013

Disetujui terbit tanggal: 30 Agustus 2013

## ABSTRAK

Pencemaran yang disebabkan oleh tumpahan minyak bumi telah banyak terjadi di perairan darat maupun laut. Berbagai upaya telah dilakukan salah satunya yaitu penambahan senyawa surfaktan sintetik ke perairan. Pemakaian surfaktan sintetik ternyata akan menjadi limbah yang menyebabkan kerusakan lingkungan, sehingga diperlukan upaya untuk menanggulangnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri laut hidrokarbonoklastik (*Halobacillus trueperi* dan *Rhodobacteraceae bacterium*) dalam memproduksi biosurfaktan. Penelitian dibagi menjadi 5 perlakuan, yaitu kontrol (Media+Minyak Bumi dan Media+Minyak Jelantah), Media+Minyak Bumi+*Halobacillus trueperi*, Media+Minyak Bumi+*Rhodobacteraceae bacterium*, Media+Minyak Jelantah+*Halobacillus trueperi* dan Media+Minyak Jelantah+*Rhodobacteraceae bacterium*. Parameter pengukuran meliputi diameter zona bening (uji bakteri penghasil biosurfaktan) bobot biomasa, bobot endapan asam, dan tegangan permukaan (produksi biosurfaktan). Hasil penelitian menunjukkan *R. bacterium* dengan sumber karbon minyak jelantah lebih berpotensi memproduksi biosurfaktan dibandingkan dengan bakteri *H. truperi*. Produksi biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri *R. bacterium* sebesar 0,7047 g/L. Isolat bakteri *R. bacterium* dapat menurunkan tegangan permukaan dari 40,80 mN/m hingga mencapai 30,09 mN/m, kemampuan menurunkan hingga 30,09 mN/m sehingga biosurfaktan yang di produksi bakteri ini dapat digunakan sebagai akselerator biodegradasi hidrokarbon pencemaran minyak bumi di laut.

**Kata kunci:** biosurfaktan bakteri laut hidrokarbonoklastik, akselerasi biodegradasi *crude oil*

## ABSTRACT

*Pollution has occurred on landwater and seawater caused by oil spills from petroleum hydrocarbons. Numerous attempts have been made, one of which is the addition of synthetic surfactant compounds into the water. The use of synthetic surfactants is apparently going to be waste that causes damage to the environment, so it takes effort to menaggulangnya. This research aims to know the potential of marine hidrokarbonoklastik bacteria (*Halobacillus trueperi* and *Rhodobacteraceae bacterium*) in producing biosurfactant. The research is divided into 5 treatments, namely control (Petroleum Media and Media Oil Jelantah), Petroleum *Halobacillus trueperi* Media, Media *Rhodobacteraceae bacterium* Petroleum Oil Media Jelantah Media *trueperi* and *Halobacillus Oil Jelantah Rhodobacteraceae bacterium*. Parameters measured is the diameter of the clear zone (biosurfaktan-producing bacteria test) weights, weights biomass sludge acid, and surface tension (biosurfaktan production). The results showed *r. bacterium* with carbon jelantah oil biosurfaktan producing more potent than the bacteria *h. truperi*. Biosurfaktan productions produced by *r. bacterium* of 0,7047 g/l. Isolates of bacteria *r. bacterium* can lower the surface tension of 40,80 mN/m until you reach 30,09 mN/m, ability to 30,09 mN/m so that the biosurfaktan in the production of these bacteria could be used as an accelerator of hydrocarbon biodegradation of oil pollution at sea.*

**Keywords:** biosurfactant, marine bacteria hidrokarbonoklastik, acceleration biodegradation hidrocarbon

## I. PENDAHULUAN

Surfaktan merupakan senyawa kompleks yang terdiri atas gugus hidrofilik dan hidrofobik sehingga bersifat larut dalam air maupun minyak (Bica dkk., 1999; Vater dkk., 2002). Sifat tersebut menyebabkan surfaktan memiliki kemampuan menurunkan tegangan permukaan cairan (*surface tension*). Kemampuan ini dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang diantaranya bidang farmasi, industri dan lingkungan (Mishra dkk., 2009; Dehghan dkk., 2008; Nitschke dkk., 2002; Schramm dkk., 2000; Ni'matuzahroh dkk., 2006)

Di bidang lingkungan khususnya lingkungan perairan laut, surfaktan digunakan sebagai akselerator proses biodegradasi hidrokarbon untuk penanggulangan pencemaran minyak di laut (Ni'matuzahroh dkk., 2006). Jenis surfaktan yang banyak digunakan dalam penanggulangan ini adalah surfaktan sintetik. Surfaktan sintetik setelah digunakan akan menjadi limbah yang sukar terdegradasi sehingga berdampak pada kerusakan lingkungan. Adanya permasalahan inilah yang menyebabkan diperlukan suatu alternatif surfaktan yang mudah terdegradasi sehingga lebih ramah lingkungan.

Biosurfaktan merupakan jenis surfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme bersifat alami, dan lebih ramah lingkungan. Biosurfaktan mempunyai sifat yang mirip seperti surfaktan sintetik, namun lebih rendah tingkat toksisitasnya dan mudah terurai secara biologi. Oleh sebab itu penggunaan surfaktan jenis biosurfaktan mendapat perhatian sebagai teknologi alternatif dalam mempercepat proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi. Selain itu, biosurfaktan juga lebih murah jika dibandingkan dengan surfaktan sintetik (Christova dan Ivshina, 2002).

Dari beberapa penelitian yang telah dilakukan, mikroorganisme yang mempunyai kemampuan menghasilkan biosurfaktan adalah jenis bakteri laut hidrokarbonoklastik. Bakteri ini adalah bakteri yang ditemukan di lingkungan perairan laut yang tercemar minyak dan mempunyai kemampuan untuk mendegradasi senyawa hidrokarbon minyak bumi (Nugroho, 2006). Kemampuan biosurfaktan dalam mempercepat proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi dapat dilihat dari kemampuan senyawa ini dalam menurunkan tegangan permukaan (Hidayati dkk., 2011; Kasai dkk., 2001). Suatu jenis surfaktan

dikatakan efektif apabila dapat menurunkan tegangan permukaan mencapai  $\leq 35$  mN/m (Mulligan dkk., 2004).

*Bacillus megaterium* merupakan bakteri yang ditemukan di perairan yang tercemar minyak dari sedimen mangrove Cilacap Jawa Tengah. Bakteri ini terbukti menghasilkan biosurfaktan  $\geq 2,5$  gr/L, mampu menurunkan tegangan permukaan mencapai 28,38 mN/m juga terbukti dapat mempercepat proses biodegradasi *Polyaromatic Aromatic* Hidrokarbon (PAH) yaitu *fluorene* hingga 230% (Hidayati dkk., 2011). Berdasarkan hasil penelitian Hidayati dkk., 2011 tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai bakteri lain yang diisolasi di perairan yang sama dengan bakteri tersebut. Dua jenis bakteri telah diisolasi dari perairan yang sama dengan *B. megaterium* yaitu *H. trueperi* dan *R. bacterium*. Penelitian ini dilakukan untuk menguji apakah kedua bakteri tersebut juga memiliki potensi yang sama dalam produksi biosurfaktan sebagai pemercepat biodegradasi hidrokarbon minyak bumi

Tujuan dari penelitian ini untuk mendapatkan bakteri uji yang berpotensi memproduksi biosurfaktan. Juga untuk mengetahui besar biosurfaktan yang dihasilkan dari bakteri terpilih, dan mengetahui kemampuan biosurfaktan tersebut dalam menurunkan tegangan permukaan. Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai bahan acuan mengenai bakteri yang dapat memproduksi biosurfaktan dan selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai salah satu alternatif teknologi sebagai akselerator proses bioremediasi hidrokarbon minyak bumi.

## II. BAHAN DAN METODE

### A. Bahan

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah dua jenis bakteri laut hidrokarbonoklastik *H. trueperi* dan *R. bacterium* hasil isolasi dari sedimen mangrove Cilacap, Jawa Tengah yang terkontaminasi minyak bumi (Syakti dkk., 2008). Terhadap kedua bakteri ini dilakukan pengujian untuk menentukan bakteri penghasil biosurfaktan yang terbaik. Setelah mendapatkan bakteri terbaik maka bakteri inilah yang akan digunakan untuk studi lebih lanjut untuk memproduksi biosurfaktan. Sebagai sumber hidrokarbon digunakan *crude oil* dan minyak jelantah. Pada penelitian ini juga menggunakan *Mineral Salt Medium* (MSM) untuk adaptasi bakteri pada media uji.

## B. Metode

Metode penelitian ini terdiri dari dua tahapan, tahapan pertama yaitu metode uji potensi bakteri penghasil biosurfaktan dan yang kedua yaitu metode produksi biosurfaktan. Rancangan Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Dua perlakuan dari organisme uji dan 2 perlakuan dari media uji. Perlakuan ini masing-masing diulang sebanyak 6 kali. Faktor penelitian ini meliputi sumber karbon dan jenis bakteri:

Kontrol : Media+M. bumi dan Media+M. Jelantah

P1B1 : Media+M. Bumi+*H. trueperi*

P1B2 : Media+M. Bumi+*R. bacterium*

P2B1 : Media+M. Jelantah+*H. trueperi*

P2B2 : Media+M. Jelantah+*R. bacterium*

### 1. Penyegaran dan Kultivasi Isolat Bakteri

Penyegaran bakteri dilakukan melalui pengenceran dengan larutan NaCl 0,85%. Bakteri hasil pengenceran dikultivasi pada media *marine* agar untuk perbanyakan. Sedangkan peremajaan dilakukan dengan cara memindahkan kultur bakteri hasil kultivasi ke dalam *medium marine* agar miring dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultivasi dilakukan dengan menambahkan 3 ose kultur bakteri pada *medium marine broth* 100 mL, kemudian diinkubasi pada *waterbath shaker* pada suhu 37°C selama 48 jam, setelah itu dilakukan adaptasi.

### 2. Adaptasi bakteri dengan media uji

Adaptasi bakteri dilakukan melalui tiga tahapan. Adaptasi pertama dengan menambahkan 50 mL kultivasi bakteri dan 50 mL *Mineral Salt Medium* (MSM) pada erlenmeyer 250 mL dengan komposisi: (g/L) NaNO<sub>3</sub> 15, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 3.4, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 4.4, KCl 1.1, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.00028, NaCl 1.1, Glukosa 20, Yeast ekstrak 0.5 dan 0.5 mL larutan *trace element* berisi (g/L) CaCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 0.24, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.25, MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.17, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.29. Adaptasi kedua dilakukan dengan menambahkan 25 mL kultur adaptasi pertama dan 75 mL medium MSM serta penambahan 1% sumber karbon (*crude oil* dan minyak jelantah). Selanjutnya diinkubasi pada *waterbath shaker* dengan suhu 37°C selama 36 jam dengan kecepatan 120 rpm. Adaptasi ketiga dilakukan dengan menambahkan 100 mL

kultur adaptasi kedua dan 300 mL medium MSM serta penambahan sumber karbon (*crude oil* dan minyak jelantah) 2%. Selanjutnya diinkubasi pada *waterbath shaker* dengan suhu 37°C selama 48 jam. Kultur mikroba yang telah teradaptasi ini selanjutnya digunakan untuk uji produksi biosurfaktan.

### 3. Uji Pendahuluan Produksi Biosurfaktan

#### a. Oil Spreading Test

Uji ini adalah uji untuk mendeteksi awal bakteri penghasil biosurfaktan, Uji ini dilakukan dengan memasukan 50 mL akuades steril ke cawan petri, kemudian ditambahkan 20 µl *crude oil*. Selanjutnya ditambahkan 10 µl *supernatant* dari adaptasi 3. Zona bening yang terbentuk kemudian diukur dan dihitung dengan menggunakan rumus ODA (*Oil Displacement Area*) (Morikawa dkk., 2000):

$$ODA(cm^2) = \frac{22}{7} \times (r)^2$$

$r$  = diameter zona bening

Setelah zona bening terbentuk dilakukan skoring berdasarkan Techaoei dkk., (2011) diantaranya sebagai berikut :

- : tidak terbentuk zona bening
- + : zone baning 0,1-3,14 cm<sup>2</sup>
- ++ : zona bening 3,14-12,57 cm<sup>2</sup>
- +++ : zona bening 12,57-28,28 cm<sup>2</sup>
- ++++ : zona bening > 28,28 cm<sup>2</sup>

#### b. Kondisi Lingkungan Pertumbuhan Bakteri

Tahapan ini dilakukan untuk mendapatkan kondisi pertumbuhan optimal, yaitu dilakukan pada kondisi pH 6.0, 7.0, dan 8.0, suhu ruang dan suhu 37°C, dan salinitas 20 ‰, 30 ‰.

#### c. Kurva Pertumbuhan

Tahapan dilakukan secara duplo dan diamati setiap 12 jam yang dimulai pada jam ke-0. Pengamatan dilakukan hingga diperoleh fase stasioner dengan menghitung populasinya menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC).

### 4. Produksi Biosurfaktan

Tahapan ini dilakukan dalam erlenmeyer sekali unduh dalam fermentor kapasitas 6 L untuk volume kerja 4 L, prosesnya menggabungkan medium MSM 3,5 L dan prosentase inokulasi biakan bakteri serta

sumber karbon 2% dari total kultur produksi tersebut, kemudian ditumbuhkan hingga 96 jam (mengacu pada kurva pertumbuhan). Pengamatan dilakukan pada jam ke-0 hingga jam ke-96.

#### a. Ekstraksi Biosurfaktan

Cairan fermentasi sebanyak 100 mL disentrifugasi selama 20 menit pada suhu 4°C dan kecepatan 8.000 rpm untuk memisahkan cairan media, *supernatant* dan *pellet* (biomasa sel). Kemudian cairan supernatant diasamkan dengan larutan HCl 10 N sampai pH menjadi 2 dan disimpan pada suhu 4°C selama 12 jam. Selanjutnya larutan disentrifugasi kembali pada suhu 4°C dan kecepatan 11.000 rpm selama 20 menit. Setelah sentrifugasi berjalan membentuk *pellet* atau endapan asam, *pellet* tersebut dikeringkan dalam oven suhu 45°C sampai kering hingga diperoleh bobot konstan biosurfaktan. Kemudian endapan kasar biosurfaktan ditimbang dimana bobot endapan asam (Y) dapat di peroleh dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Hidayati dkk., 2011):

$$Y \frac{g}{l} = \frac{((a-b)(g)) \times 10^2}{\text{volume contoh (ml)}}$$

a = bobot tabung berisi endapan asam

b = bobot kosong tabung

#### b. Tegangan permukaan (Surface tension)

Pengukuran tegangan permukaan dilakukan dengan menggunakan *Processor Tensiometer* (Krüss) yang dilengkapi dengan *ring plate* (Kim dkk., 2000).

### III. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Uji Potensi Bakteri Penghasil Biosurfaktan

Hasil *oil spreading* (Tabel 1) menunjukkan kedua kultur isolat bakteri *H. truperi* dan *R. bacterium* yang ditetaskan pada lapisan minyak dan air dapat membentuk zona bening pada berbagai media sumber karbon. Hasil *oil spreading* kultur isolat bakteri *H. truperi* dan *R. bacterium* dapat membentuk zona bening 24.64 cm dan 45.38 cm pada media dengan sumber karbon minyak jelantah sedangkan pada media dengan sumber karbon *crude oil* membentuk zona bening sebesar 1.54 cm dan 2.55 cm. Hasil ini berbeda dengan kontrol, yang mana

tidak terbentuk zona bening. Hal ini disebabkan karena pada zona bening masing-masing kontrol tidak adanya penambahan isolat bakteri ke dalam media uji, sehingga tidak ada aktifitas bakteri guna memanfaatkan sumber karbon dalam memproduksi biosurfaktan. Berdasarkan hasil analisis (Tabel 1) kultur bakteri *R. bacterium* dapat membentuk zona bening terlebar dengan skoring (\*\*\*\*) pada sumber karbon minyak jelantah dan skoring (\*\*\*) pada sumber karbon *crude oil*. Faktor yang mempengaruhi produksi biosurfaktan diantaranya adalah kemampuan bakteri dalam mensintesis hidrokarbon yang dapat dilihat dari terbentuknya zona bening. Berdasarkan pernyataan diatas bakteri *R. bacterium* memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan yang lebih besar dibandingkan dengan bakteri *H. truperi*.

Hasil *oil spreading* menunjukkan bahwa kedua kultur isolat bakteri uji *H. truperi* dan *R. bacterium* yang ditetaskan pada lapisan minyak dan air dapat membentuk zona bening pada berbagai media sumber karbon (Gambar 1).

Sementara itu hasil *oil displacement area* (ODA) menjelaskan bahwa media dengan sumber karbon minyak jelantah pada kedua bakteri uji membentuk zona bening lebih besar yaitu 94-95% dari pada media dengan sumber karbon *crude oil*. Sumber karbon sangat penting dalam produksi biosurfaktan. Dari beberapa hasil penelitian mengenai produksi biosurfaktan dengan berbagai sumber karbon berbeda dapat menghasilkan zona bening yang berbeda juga (Techaoei, 2011), dan penggunaan sumber karbon yang berbeda dapat menghasilkan biosurfaktan yang berbeda juga (Hidayati dkk., 2011; Robert dkk., dalam Prastikasari, 2000).

Dalam biosintesis biosurfaktan selain faktor kemampuan bakteri ada beberapa faktor lain yang mempengaruhi pembentukan biosurfaktan yaitu lingkungan, nutrien, dan sumber karbon. Pembentukan struktur gugus hidrofilik (karbohidrat, asam amino, peptida siklik, alkohol) dan hidrofobik (asam lemak rantai panjang, asam lemak hidroksi) pada berbagai jenis biosurfaktan tergantung pada sumber karbon yang ada. Gugus-gugus ini disintesis oleh bakteri melalui dua jalur metabolisme, yaitu jalur karbohidrat dan jalur lemak (hidrokarbon) (Desai dan Banat, 1997). Sumber karbon yang ada pada media pertumbuhan bakteri akan digunakan untuk kebutuhan hidup sehingga akan terjadi perubahan

**Tabel 1**  
**Hasil uji oil spreading oleh bakteri laut *H. truperi* dan *R. bacterium* pada dua media**

Media	Jenis Isolat Bakteri	Diameter Zona Bening (cm)							oil displacement area (ODA)(cm <sup>2</sup> )
		U1	U2	U3	U4	U5	U6	Rata-rata	
MSM+M.Jelantah	<i>H. truperi</i>	4.8	5.7	4.9	5.5	6.5	5.7	5.5	24.64***
	<i>R. bacterium</i>	5.9	7.3	8.6	8.3	7.5	8	7.6	45.38****
	Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0
MSM+M.Crude Oil	<i>H. truperi</i>	0.9	1.6	1.7	1.1	1.6	1.2	1.4	1.54*
	<i>R. bacterium</i>	2	2.3	2	2	1.9	1.5	1.95	2.55***
	Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0

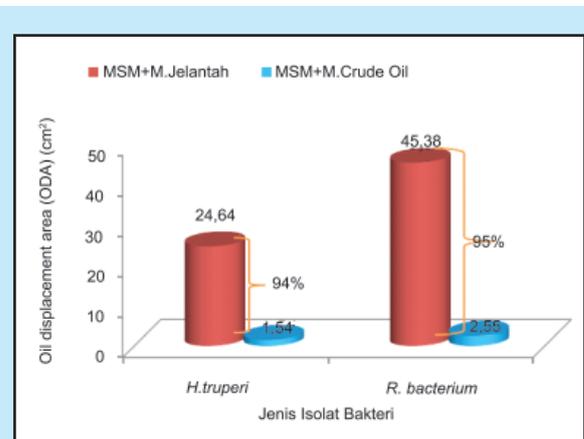
Keterangan skoring: tidak terbentuk zona bening = -, diameter zona bening 0,1-3,14 cm<sup>2</sup> = \*, diameter zona bening 3,14-12,57 cm<sup>2</sup> = \*\*, diameter zona bening 12,57-28,28 cm<sup>2</sup> = \*\*\* diameter zona bening > 28,28 cm<sup>2</sup> = \*\*\*\* (Techaoui dkk., 2011)

sumber karbon yang ada menjadi energi dan senyawa metabolit sekunder (biosurfaktan) dengan melalui dua jalur pembentukan tersebut.

Selain dua jalur diatas beberapa peneliti juga menggolongkan pembentukan gugus hidrofobik dan hidrofilik pada biosurfaktan dalam mensintesis senyawa hidrokarbon (*de novo synthesis*) yaitu (Sineriz dkk., 2010):

1. Bagian hidrofilik dan hidrofobik disintesis secara *de novo* yaitu oleh dua jalur metabolisme
2. Bagian hidrofilik disintesis *de novo* dan bagian hidrofobik disintesis oleh substrat
3. Bagian hidrofobik disintesis oleh *de novo* dan bagian hidrofilik disintesis oleh substrat
4. Bagian hidrofilik dan hidrofobik disintesis oleh substrat yang digunakan.

Dari hasil *oil displacement area* (ODA) menjelaskan bahwa kedua kultur bakteri uji dengan sumber karbon minyak jelantah membentuk zona bening lebih besar yaitu 94-95% dari pada kultur dengan sumber karbon *crude oil*. Hidrokarbon pada minyak jelantah lebih cepat dimanfaatkan oleh masing-masing bakteri uji untuk kebutuhan hidup dibandingkan dengan *crude oil*. Hal ini disebabkan rantai hidrokarbon pada minyak jelantah lebih dominan tersusun dari rantai karbon panjang bercabang namun tidak rangkap (Prastikasari, 2000). Kondisi ini lebih mudah terdegradasi oleh bakteri *R. bacterium* dan *H. truperi* daripada *crude oil* yang sebagian besar rantai karbonnya tersusun oleh rantai panjang bercabang dan berikatan rangkap membentuk cincin dengan 3 ikatan rangkap (hidrokarbon aromatik) (Syakti, 2004; Nugroho, 2006). Kompleksnya struktur ini menyebabkan *crude*



**Gambar 1**  
**Diagram oil displacement area (oda) (cm<sup>2</sup>) bakteri hidrokarbonoklastik pada media tumbuh dan sumber karbon yang berbeda**

*oil* yang terdegradasi membutuhkan waktu cukup lama karena ikatan rangkap yang panjang, sehingga dengan waktu inkubasi yang sama dan sumber karbon berbeda menghasilkan produksi biosurfaktan yang berbeda pula.

## B. Produksi Biosurfaktan

### 1. Ekstraksi biosurfaktan dan bobot biomasa sel

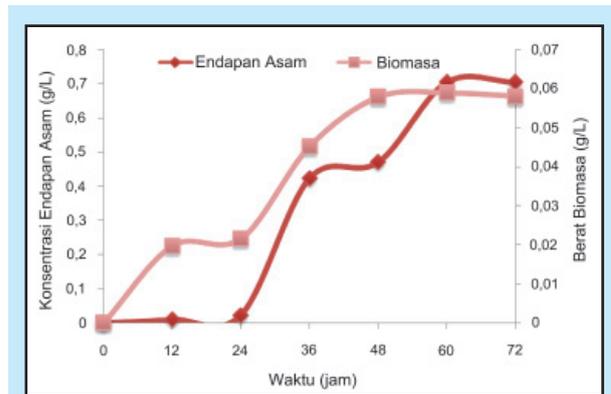
Produksi biosurfaktan dilakukan setelah mendapatkan umur optimum pertumbuhan bakteri *R. bacterium* melalui kurva pertumbuhan yaitu pada jam ke-48. Berdasarkan hasil pengamatan produksi biosurfaktan menunjukkan bahwa peningkatan produksi biosurfaktan berbanding lurus dengan peningkatan biomasa sel isolat bakteri *R. bacterium* (Gambar 2). Peningkatan terjadi pada jam ke-0 sampai jam ke-12 kemudian diikuti sedikit penurunan

hingga jam ke-24. Penurunan ini disebabkan sedang terjadinya penyesuaian bakteri dengan kondisi lingkungan pada media tumbuh, sehingga pada jam tersebut isolat bakteri *R. bacterium* berada pada fase adaptasi. Pada fase ini energi yang di dapat biasanya hanya digunakan untuk melakukan adaptasi terhadap lingkungan. Kondisi ini berkorelasi positif terhadap hasil ekstraksi endapan asam (biosurfaktan), terlihat dari hasil pengukuran pada jam ke-0 hingga jam ke-12 menunjukkan tidak diperolehnya endapan asam.

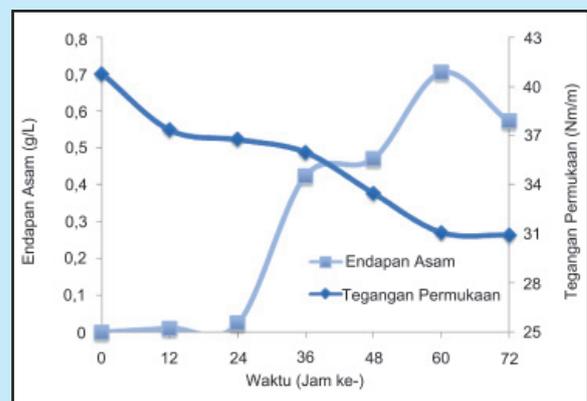
Bobot sel dan endapan asam bakteri mulai meningkat stabil dari jam ke-24 sampai jam ke-60. Waktu yang ditempuh *R. bacterium* dalam meningkatkan bobot biosurfaktan terjadi pada jam ke-24 bersamaan dengan meningkatnya populasi bakteri. Pada jam ke-24 hingga jam ke-60 kenaikan bobot biomasa dan endapan asam terus berlangsung, hingga diperoleh bobot biomasa dan endapan asam maksimum (jam ke-60) sebesar 0,059 g/L dan 0,7047 g/L. Kestabilan peningkatan bobot biosurfaktan ini terjadi sejalan dengan waktu kurva tumbuh bakteri memasuki fase eksponensial yang diperoleh saat pembuatan kurva pertumbuhan. Kadarwati dan Leni (2008) menegaskan bahwa, pada saat bakteri memasuki fase eksponensial maka produksi biosurfaktan mulai meningkat stabil. Hasil pembentukan endapan asam selama pertumbuhan bakteri (Gambar 2) menunjukkan bahwa, dengan meningkatnya bobot biomassa maka meningkat pula endapan asam yang diperoleh. Konsentrasi endapan asam mulai meningkat setelah jam ke-12 hingga jam ke-60, selanjutnya relatif konstan. Kosentrasi endapan asam maksimum bakteri dicapai pada jam ke-60 bersamaan dengan tercapainya biomasa maksimum. Hal ini menunjukkan pola peningkatan produksi yang seiring dengan peningkatan biomassa. Berdasarkan hasil ini produksi biosurfaktan mengikuti pola pembentukan produk yang berasosiasi dengan pertumbuhan.

## 2. Ekstraksi biosurfaktan dan tegangan permukaan

Kemampuan suatu bakteri sebagai akselerator proses biodegradasi hidrokarbon minyak bumi dapat dilihat dari kemampuan biosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan (Hidayati dkk., 2011; Nugroho, 2006; Ni'matuzaroh dkk., 2006). Tegangan permukaan dapat dijadikan parameter untuk memprediksi biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri selama masa pertumbuhan (Morikawa



**Gambar 2**  
Kurva biomasa sel dan produksi biosurfaktan isolate bakteri *R. bacterium* selama pertumbuhan pada media dengan sumber karbon minyak jelantah



**Gambar 3**  
Kurva tegangan permukaan biosurfaktan oleh bakteri *R. bacterium* selama masa pertumbuhan

dkk., 2000). Nilai tegangan permukaan berkorelasi dengan tingginya biosurfaktan yang dihasilkan oleh media kultivasi.

Tegangan permukaan adalah usaha yang dibutuhkan untuk memperluas permukaan cairan per satuan luas. Tegangan permukaan merupakan suatu gaya yang timbul sepanjang garis permukaan suatu cairan. Gaya ini timbul karena adanya kontak antara dua cairan yang berbeda fase. Hasil pengukuran tegangan permukaan (Gambar 3) media biak bakteri *R. bacterium* mengalami penurunan dari 40,8 mN/m menjadi 31,09 mN/m dan memproduksi biosurfaktan 0 g/L sampai 0,7047 g/L. Penurunan ini terjadi karena media biakan bakteri *R. bacterium* mulai menghasilkan senyawa ekstraselular yang mempunyai sifat aktif permukaan (biosurfaktan).

Biosurfaktan tersusun atas gugus hidrofobik dan hidrofilik pada molekulnya dan memiliki kecenderungan untuk berada pada antarmuka antara dua fase yang berbeda derajat polaritasnya (Nitschke dan Pastore, 2002).

Biosurfaktan mampu menurunkan tegangan permukaan diantara dua fase. Sifat kepolaran yang berbeda diantara kedua fase mengakibatkannya tidak dapat saling terlarut, dengan adanya molekul surfaktan yang memiliki kecenderungan terhadap kedua fase tersebut maka keduanya dapat saling bercampur. Molekul-molekul cairan yang ada dipermukaan mengalami resultan gaya ke arah dalam badan cairan. Hal ini mengakibatkan molekul-molekul tersebut cenderung menekan atau berdesakan ke dalam menghindari permukaan, dimana molekul-molekul di dalam cairan mengalami resultan gaya yang seimbang. Adanya kecenderungan ke dalam badan cairan menghasilkan gaya, besar daya yang diperlukan untuk memecah permukaan cairan sehingga terbentuk satu luasan baru pada permukaan disebut dengan tegangan permukaan (Vater dkk., 2002).

Molekul-molekul non polar tidak mampu menyeimbangkan gaya molekul pada permukaan cairan polar sehingga terdapat batas antara cairan polar dan non polar. Pada gugus polarnya biosurfaktan menyeimbangkan gaya molekul permukaan cairan dan rantai nonpolarnya mengarah pada molekul-molekul hidrofobik. Setiap molekul dalam cairan mengalami gaya dalam tiga dimensi (arah) dari molekul tetangga. Molekul yang berada di permukaan cairan mengalami defisiensi di posisi atas, tetapi kuat di tiga arah gaya lainnya.

Setelah jam ke-60 sampai jam ke-72 penurunan tegangan permukaan tidak begitu signifikan yaitu dari 31,09 mN/m sampai 30,39 mN/m. Penurunan yang tidak signifikan menandakan bahwa pada jam tersebut tegangan permukaan mencapai konsentrasi misel kritis. Konsentrasi misel kritis merupakan kelarutan surfaktan dalam fase cair atau konsentrasi minimum yang dibutuhkan untuk mencapai nilai tegangan permukaan. Penurunan tegangan permukaan akibat penambahan biosurfaktan hanya terjadi sampai tercapainya konsentrasi-konsentrasi misel kritis. Hal ini di buktikan pada jam ke-60 (Gambar 3) diperkirakan mencapai masa *Critical Micelle*

*Concentration* dengan produksi biosurfaktan maksimal. Pada jam ke-72 biosurfaktan yang dihasilkan menurun, akan tetapi tegangan permukaan yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan surfaktan yang dihasilkan pada jam ke-60 yang mencapai maksimal. Hasil tersebut sesuai dengan pernyataan Karsonic dkk., (1987) dimana konsentrasi misel kritis menjadi jenuh dengan biosurfaktan, sehingga penambahan biosurfaktan di atas konsentrasi misel kritis tidak secara nyata menurunkan tegangan permukaan.

#### IV. KESIMPULAN DAN SARAN

##### A. Kesimpulan

Kedua bakteri uji yaitu bakteri *H. truperi* dan *R. bacterium* memiliki kemampuan memproduksi biosurfaktan yang di tandai dengan terbentuknya zona bening pada uji *Oil Spreading Test*. Selanjutnya dari kedua isolat bakteri, bakteri *R. bacterium* dengan sumber karbon minyak jelantah lebih berpotensi memproduksi biosurfaktan lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri *H. truperi* karena zona bening yang di bentuk lebih lebar berdasarkan uji *Oil Spreading Test*, dan menunjukkan hasil produksi biosurfaktan sebesar 0,7047 g/L. Isolat bakteri *R. bacterium* dapat menurunkan tegangan permukaan dari 40,80 mN/m hingga mencapai 30,09 mN/m, kemampuan menurunkan hingga 30,09 mN/m dapat diartikan biosurfaktan yang di produksi bakteri ini dapat digunakan sebagai akselerator biodegradasi hidrokarbon pencemaran minyak bumi di laut.

##### B. Saran

Saran terhadap penelitian ini adalah perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai karakteristik biosurfaktan dari *R. bacterium*.

#### KEPUSTAKAAN

1. **Bica F.C., L.C. Fleck and M.A. Zachio.** 1999. Production of Biosurfactant by Hydrocarbon Degrading *Rhodococcus rubber* and *Rhodococcus erythropolis*. *J. Microbiol*, 30: 231-236.
2. **Christova, N., Ivshina, I.B.** 2002. Microbial Surfactants and Their Use in Field Studies of Soil Remediation. *J. Applied Microbiol.*, 93: 915-929.
3. **Dehghan, G., Behravan, dan Moshafi.** 2008. Studies on Biosurfactants Production by *Bacillus licheniformis* Iran. *Pharmaceutics Research Center, Kerman University of Medical Sciences.*

4. **Desai, J.D., Banat, I.M.** 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. *Microbiology and Molecular Biology Review*, 61: 47-64.
5. **Hidayati, N. V., Endang, H., Abdul, H., Hefni, E., Michel, G., Pierre, D., Agung D. S.** 2011. Fluorene Removal by Biosurfactants Producing *Bacillus megaterium*. *Waste and Biomass Valorization*. 2: 415-422.
6. **Kadarwati, S., Leni, H.** 2008. Effect Of Biosurfactant Produced By *Bacillus* In Oily Wastewater Degradation. Lemigas Research and Development Centre for Oil and Gas Technology. 31 (3) : 40-41.
7. **Kasai, Y., Kishira, H., Sytsubo, K., Harayama, S.** 2001. Molecular detection of Marine Bacterial Populations on Beaches Contaminated by The Nakhodka Tanker Oil-spill Accident. *Environ Microbiol*, 3: 46-55.
8. **Kim S, Lim E, Lee S, Lee J, dan Lee T.** 2000. Purification and Characterization of Biosurfactants from *Nocardia* sp. L-417. *Biotechnology and Applied Biochemistry* 31: 249-253.
9. **Kosaric, N.** 1992. Biosurfactants in Industry. *Pure and Appl. Chem*, 64: 1731-1737.
10. **Mishra, M., Muthuprasanna, Surya, Sobhita, Satish, Sarath, G.Arunachalam and Shalini.** 2009. Basics and Potential Applications of Surfactants-A Review. *International Journal of PharmTech Research*. 1: 1354-1365.
11. **Morikawa, Hirata Y, Imanaka T.** 2000. A Study On The Structure Function Relationship Of The Lipopeptide Biosurfactants. *Biochim Biophys Acta*. 1488: 211-218.
12. **Mulligan, C.N. and Bernard F. Gibbs.** 2004. Types, Production Applications of Biosurfactants. *Proc. Indian Natn Sci Acad.* 1; 31-55.
13. **Ni'matuzahroh, Arif Y., dan Mulyadi, T.** 2006. Studi Perbandingan Biosurfaktan *pseudomonas aeruginosa* Ia7d dan Surfaktan Sintetik tween-80 dalam Biodegradasi Solar oleh Mikroba Perairan Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. *Berk. Penel. Hayati*: 12:13-18.
14. **Nitschke, M. and Pastore, G. M.,** 2002. Biosurfactants: Properties and Applications. *Quim. Nova*; 25; 772-776.
15. **Nugroho, Astri.** 2006. Bioremediasi Hidrokarbon Minyak Bumi. *Graha Ilmu Yogyakarta*. Yogyakarta. 158 hal.
16. **Prastikasari, R.** 2000. Pengaruh Hidrokarbon Sebagai Sumber Karbon Terhadap Pertumbuhan, Produksi Rhamnolipid serta Aktivitas Degradasi Hidrokarbon Oleh *Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
17. **Schramm, L. L, Elaine N. S. and Gerrard M.** 2000. Surfactants and Their Applications. *Annu. Rep. Prog. Chem., Sect. C*. 99: 3-48.
18. **Sineriz, F., Hommel, K.R., Kleber, P.H.** 2010. Production of Biosurfactants. *Biotechnology*, 5.
19. **Syakti, A.D.** 2004. Biotransformation des hydrocarbures pétroliers et effets sur les acides gras phospholipidiques des bactéries hydrocarbonoclastes marines. Thèse-Doctorat. Université Paul Cezanne Aix Marseille III. 220p.
20. **Syakti AD., Hidayati, N.V., Yani, M., Sidiana, I.M.** 2008. PAH-Degaders Marine Bacteria Isolated From Chronically Contaminated Sediment by Petroleum Hydrocarbons. Seminar Nasional Perhimpunan Mikrobiologi Indonesia (PERMI).
21. **Techaoei S., P., Lumyong, S., Prathumpai, W., Santiarwan, D., Leelapornpisid, P.** 2011. Screening Characterization and Stability of Biosurfactant Produced by *Pseudomonas aeruginosa* SCM106 Isolated From Soil in Northern Thailand. *Asian Journal of Biological Sciences*, 4 (4): 340-351.
22. **Vater J, Kablitz B, Wilde C, Franke P, Mehta N, and Cameotra SS.** 2002. Matrix assisted Laser Desorption Ionization-time of Flight Mass Spectrometry of Lipopeptide biosurfactant in Whole Cell and Culture Filtrates of *Bacillus subtilis* C-1 Isolated from Petroleum Sludge. *J. Appl. Environ. Microbiol* 68: 6210-6219.