

Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen *Bacillus sp.* PKT D4 dengan Variasi Sumber Nitrogen

Ria Mela Rosi¹, Nurhasanah^{1*}, Ilim¹, Heri Satria¹, Mulyono¹

¹Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung
Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung

*Email korespondensi: nur.hasanah@fmipa.unila.ac.id

Dikirim: 25-03-2022, Diterima: 25-04-2022, Diterbitkan: 02-05-2022

Abstrak

Biosurfaktan merupakan surfaktan ramah lingkungan yang diproduksi oleh mikroorganisme seperti bakteri, ragi, dan jamur. Manfaat biosurfaktan yaitu menurunkan tegangan permukaan suatu fluida sehingga dapat mengemulsikan dua fluida yang tidak saling bercampur. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan kondisi optimum dalam memproduksi biosurfaktan dari bakteri indigen *Bacillus sp.* PKT D4 dengan variasi sumber nitrogen. Metode yang digunakan meliputi variasi sumber nitrogen (amonium klorida, urea dan amonium sulfat) dengan berbagai konsentrasi, waktu pertumbuhan, penentuan pH, dan kadar salinitas optimum. Sebagai sumber karbon digunakan 10% minyak zaitun. Pengujian biosurfaktan dilakukan dengan mengukur indeks emulsifikasi (IE24), *drop collapse* dan *oil spreading*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri indigen *Bacillus sp.* PKT D4 memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan dengan sumber nitrogen urea 0,35 %, sumber karbon minyak zaitun 10%, pH 5, kadar salinitas 0,5 % dan waktu produksi 72 jam dengan indeks emulsi (IE24) 79,31 %, zona bening pada uji *oil spreading* 4 cm dan uji *drop collapse* menunjukkan hasil positif. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri indigen *Bacillus sp.* PKT D4 mampu menghasilkan biosurfaktan relatif lebih baik dengan menggunakan urea sebagai sumber nitrogen.

Kata kunci: bakteri indigen *Bacillus sp.* PKT D4, biosurfaktan, indeks emulsi, sumber nitrogen

1. Pendahuluan

Surfaktan merupakan senyawa kimia yang bersifat amfifilik dimana sifat hidrofilik dan hidrofobik terdapat dalam satu molekul surfaktan. Surfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan suatu fluida sehingga dapat mengemulsi dua fluida yang tidak saling bercampur yang sangat dibutuhkan oleh industri kosmetik, makanan, tekstil, minyak bumi dan farmasi (Reningtyas and Mahreni 2015). Surfaktan bersifat non-biodegradable yang akan menimbulkan masalah lingkungan jika terlalu banyak digunakan. Untuk mengatasi hal tersebut, perlu ditingkatkan penggunaan biosurfaktan biodegradable yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu seperti bakteri, khamir, dan jamur. Biosurfaktan memiliki beberapa keunggulan diantaranya memiliki sifat fisik dan kimia yang stabil, mudah terurai, dan dapat stabil pada suhu tinggi (El-Sheshtawy and Doheim 2014).

Beberapa peneliti telah memproduksi biosurfaktan dengan memanfaatkan sumber karbon dan nitrogen yang berbeda, antara lain menggunakan glukosa dan natrium nitrat sebagai sumber karbon dan nitrogen pada isolat *P. Nitroreducens* (Onwosi and Odibo 2012). Urea dan minyak goreng digunakan sebagai sumber nitrogen dan sumber karbon pada isolat *Virgibacillus salaries* (Elazzazy et al. 2015). Kalium nitrat dan glukosa digunakan sebagai sumber nitrogen dan karbon pada isolat *B. pumilus* 2IR (Heryani and M. D. Putra 2017).

Produksi biosurfaktan dari isolat bakteri dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain substrat pertumbuhan dan kondisi lingkungan seperti waktu, temperatur, pH, salinitas, dan agitasi. Selain itu beberapa penelitian menunjukkan bahwa elemen makro seperti karbon dan nitrogen juga memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Sharma et al. 2011).

Penelitian ini menggunakan mikroba indigen isolat asal kompos, kemudian bakteri-bakteri tersebut diseleksi kemampuannya dalam menghasilkan biosurfaktan. Berdasarkan hasil yang diperoleh dengan menggunakan beberapa sumber karbon didapatkan isolat yang paling baik kemampuannya dalam menghasilkan senyawa biosurfaktan adalah bakteri indigen isolat PKT D4 pada sumber karbon minyak zaitun 10% (Cahyani 2020). Namun pengamatan sumber nitrogen belum dikaji lebih lanjut.

2. Metode

a) 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, *aluminium foil*, kompor, sentrifuga model 225 Fisher Scientific, pH meter Metrohm Mobile 826, *vortex*, *hotplate*, bunsen, spatula, *magnetic stirrer*, oven, gelas ukur, labu ukur, mikropipet Eppendorff, dan spektrofotometer UV-Vis Carry Win UV 32.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat bakteri lokal PKT D4, minyak zaitun, kapas, kasa, oli bekas, *nutrient agar* (NA), *nutrient broth* (NB), akuades, benzena, NH₄Cl, urea serta media MSM (*Mineral Salt Medium*) antara lain Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, HCl, NaOH, KH₂PO₄, (NH₄)₂SO₄, NaCl, FeSO₄.7H₂O, MgSO₄.7H₂O, CaCl₂.2H₂O, MnSO₄.H₂O, *yeast extract*, dan glukosa.

b) Uji Biosurfaktan (Uji Emulsifikasi, Uji *Oil Spreading*, Uji *Drops Collapse*)

Bakteri indigen PKT D4 adalah isolat yang berasal dari pengomposan limbah domestik dan teridentifikasi sebagai *Bacillus sp.* melalui 16S rRNA gen sekuensing. Uji biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri lipolitik yang digunakan dalam menghasilkan biosurfaktan.

Uji emulsifikasi dilakukan dengan cara mensentrifus kultur cair bakteri pada media NB yang dibeli dari Merck dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Selanjutnya, sebanyak 2 mL supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL benzena sebagai substrat non-polar pembentuk emulsi. Benzena yang digunakan dibeli dari Merck. Campuran tersebut divorteks dengan kecepatan tinggi selama 2 menit kemudian dидiamkan pada suhu ruang selama 24 jam dan diukur tinggi emulsinya (Pereira *et al.* 2013). Indeks emulsifikasi (%) ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

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

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 disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Sebanyak 30 mL akuades dimasukkan ke dalam cawan petri pada tempat yang datar, kemudian ditambahkan 1 mL oli bekas. Setelah itu secara perlahan 20 μ L supernatan kultur dimasukkan pada tengah lapisan oli bekas. Uji positif dapat teramati apabila terjadi zona bening akibat penyisihan lapisan oli bekas oleh biosurfaktan (Morikawa *et al.* 2000).

Uji *drop collapse* dilakukan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan. Sebelum melakukan uji, kultur cair bakteri disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Uji ini dilakukan dengan meneteskan 20 μ L minyak pelumas pada permukaan kaca (bersih) dan dидiamkan selama 1 jam agar stabil. Selanjutnya, di atas tetesan minyak pelumas ditetesi supernatan sebanyak 10 μ L. Tetesan supernatan di atas minyak akan berbentuk datar jika mengandung biosurfaktan (Bodour and Miller-Maier 1998).

c) Optimasi Produksi Mikroba Indigen Penghasil Biosurfaktan (Sumber Nitrogen, Waktu Produksi, pH, dan Kadar Salinitas)

Optimasi sumber nitrogen dilakukan dengan cara memasukkan 1% hasil biakan isolat bakteri dari media NB ke dalam media MSM (0,2 g KH₂PO₄; 0,5 g K₂HPO₄; 0,3 g (NH₄)₂SO₄; 0,01 g NaCl; 0,001 g FeSO₄.7H₂O; 0,02 g MgSO₄.7H₂O; 0,001 g CaCl₂.2H₂O; 0,0002 g MnSO₄.H₂O; 0,03 g glukosa dan 0,03 g *yeast extract* dalam 100 mL akuades) (Pandey 2014) yang telah ditambah 10% minyak zaitun sebagai sumber karbon serta 0,26 dan 0,35 % sumber nitrogen. Pada penelitian ini digunakan 3 sumber nitrogen yang berbeda yaitu NH₄Cl, urea, dan (NH₄)₂SO₄. Bahan MSM dan sumber nitrogen dibeli dari Merck. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* kecepatan 110 rpm selama 24 jam, kemudian dilakukan uji *oil spreading*, uji *drops collapse*, dan uji emulsifikasi.

Optimasi waktu dilakukan dengan cara hasil biakan isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam campuran media MSM dengan 10% minyak zaitun sebagai sumber karbon (Cahyani 2020) yang telah ditambah sumber nitrogen optimum. Minyak zaitun dibeli dari hpai. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* kecepatan 110 rpm selama 120 jam, kemudian dilakukan uji emulsifikasi, dan pengukuran OD. Pengukuran nilai OD (*optical density*) dilakukan setiap 12 jam sekali. Sebanyak 0,3 mL kultur dan 2,7 mL akuades dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu diukur serapannya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm untuk menentukan waktu produksi optimum (Yakimov 1995).

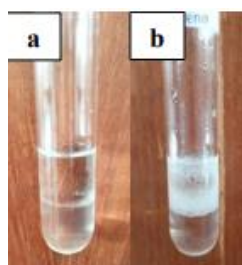
Optimasi pH dilakukan dengan cara hasil biakan isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam campuran media MSM dengan 10% minyak zaitun sebagai sumber karbon (Cahyani 2020) yang telah ditambah sumber nitrogen optimum dan telah dibuat variasi pH yaitu pH 5, 6, 7, 8, dan 9. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama waktu produksi optimum dari isolat bakteri, kemudian dilakukan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Yakimov 1995).

Optimasi kadar salinitas dilakukan dengan cara hasil biakan masing-masing isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam MSM dan 10% minyak zaitun sebagai sumber karbon (Cahyani 2020) yang telah ditambah sumber nitrogen optimum dan NaCl dengan variasi konsentrasi yaitu 0,5; 1; 3; 5 dan 9 %. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama waktu dan pH optimum. Kemudian dilakukan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Suwansukho *et al.* 2008).

3. Hasil dan Pembahasan

a) Karakter Isolat Terpilih Penghasil Biosurfaktan

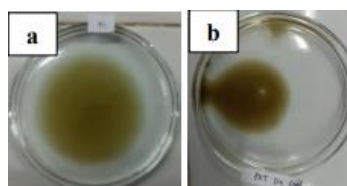
Uji pendahuluan pada mikroba indigen isolat lokal PKT D4 meliputi uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* untuk mengetahui kemampuannya dalam menghasilkan senyawa biosurfaktan. Uji emulsifikasi dilakukan berdasarkan prinsip perbandingan minyak yang teremulsi di dalam air dengan tinggi campuran minyak dan air. Campuran minyak dan air setelah dikocok dengan kecepatan tinggi menyebabkan kedua zat cair menyatu. Namun dengan adanya perbedaan polaritas, kedua zat memisah kembali setelah dibiarkan dalam kondisi stabil. Setelah penambahan biosurfaktan ke dalam campuran dua zat berbeda polaritas akan mencegah pemisahan kedua zat tersebut. Biosurfaktan yang paling baik didapatkan pada kondisi dengan harga indeks emulsi paling besar yang berarti mempunyai kestabilan emulsi yang (Gozan *et al.* 2014). Hasil positif ditunjukkan dengan adanya emulsi. Hasil uji emulsi pada uji pendahuluan bakteri isolat lokal PKT D4 dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Hasil Uji Emulsi pada Uji Pendahuluan: (a) Kontrol Negatif; (b) Isolat PKT D4

Pada Gambar 1, kontrol negatif (a) tidak terjadi pembentukan emulsi karena terdapat perbedaan kepolaran antara air yang bersifat hidrofilik dengan benzena yang bersifat hidrofobik, sedangkan pada bakteri isolat lokal PKT D4 (b) menunjukkan hasil uji positif dengan terbentuknya emulsi dengan tinggi emulsi 1,4 cm dan menghasilkan indeks emulsi 48%. Beberapa senyawa hidrokarbon yaitu benzena, toluen, dan premium dapat digunakan untuk melihat kemampuan biosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan (Suryanti *et al.* 2016). Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri isolat lokal PKT D4 mampu menghasilkan biosurfaktan yang dapat menurunkan tegangan permukaan antara senyawa hidrofilik dengan hidrofobik.

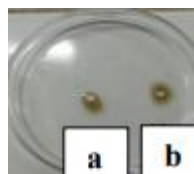
Uji *oil spreading* dilakukan untuk mengamati kemampuan bakteri penghasil senyawa biosurfaktan dalam menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air. Hasil uji *oil spreading* pada uji pendahuluan bakteri isolat lokal PKT D4 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Hasil uji *oil spreading*: (a) kontrol negatif; (b) isolat PKT D4

Pada uji *oil spreading* isolat lokal PKT D4 membentuk hasil positif dengan menghasilkan zona bening sebesar 1 mm. Terbentuknya zona bening dikarenakan supernatan yang diinjeksikan pada lapisan oli bekas teremulsi membentuk misel-misel dan menyebar kepermukaan lapisan oli. Misel terbentuk karena pada bagian hidrofobik dan hidrofilik yang terdapat di dalam biosurfaktan menyatu, menyebabkan terjadinya tekanan antara bagian hidrofobik dan hidrofilik, sehingga tegangan permukaannya turun (Techaoei *et al.* 2011).

Uji *drop collapse* dilakukan untuk melihat kemampuan biosurfaktan dalam memecah atau menurunkan tegangan permukaan selama kurang dari 1 menit. Hasil uji *drop collapse* pada uji pendahuluan bakteri isolat lokal PKTD4 dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Hasil uji *drop collapse*: (a) isolat PKT D4; (b) kontrol negatif

Berdasarkan Gambar 3, kontrol negatif yang digunakan berupa oli bekas dan tetesan air pada bagian atas berbentuk cembung yang menunjukkan air dan oli tidak dapat bercampur karena perbedaan kepolaran. Hasil uji positif ditunjukkan oleh oli yang ditetesi dengan supernatan isolat lokal PKT D4 dengan menunjukkan bentuk tetesan yang mendatar dan melebar. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri lokal PKT D4 positif menghasilkan senyawa biosurfaktan. Berdasarkan uji pendahuluan karakter isolat dalam kemampuannya menghasilkan biosurfaktan, dapat disimpulkan bahwa isolat lokal PKT D4 masih memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan dengan nilai IE 48%.

b) Kondisi Optimum Produksi Biosurfaktan

1. Sumber Nitrogen Optimum

Pada pengujian sumber nitrogen terhadap kemampuan isolat PKT D4 dalam memproduksi biosurfaktan digunakan NH_4Cl , urea dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ sebagai sumber nitrogen ditambahkan sebanyak 0,26 dan 0,35 % sumber nitrogen ke dalam MSM (Pandey *et al.* 2014). Sumber karbon optimum yang digunakan adalah minyak zaitun 10% (Cahyani 2020). Hasil penentuan sumber nitogen optimum pada produksi biosurfaktan bakteri isolat lokal PKTD4 dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1 Karakter isolat bakteri lokal PKT D4 pada berbagai sumber nitrogen

Sumber Nitrogen	Konsentrasi (%)	Nilai Indeks Emulsi (%)	Uji Oil Spreading (cm)	Uji Drop Collapse
MSM+Minyak	0.26	37.90	5.4	+
Zaitun+ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0.35	27.50	2.9	+
MSM+Minyak Zaitun+ NH_4Cl	0.26	34.00	5.5	+
	0.35	44.80	5.9	+
MSM+Minyak Zaitun+Urea	0.26	48.27	4.5	+
	0.35	62.06	5.8	+

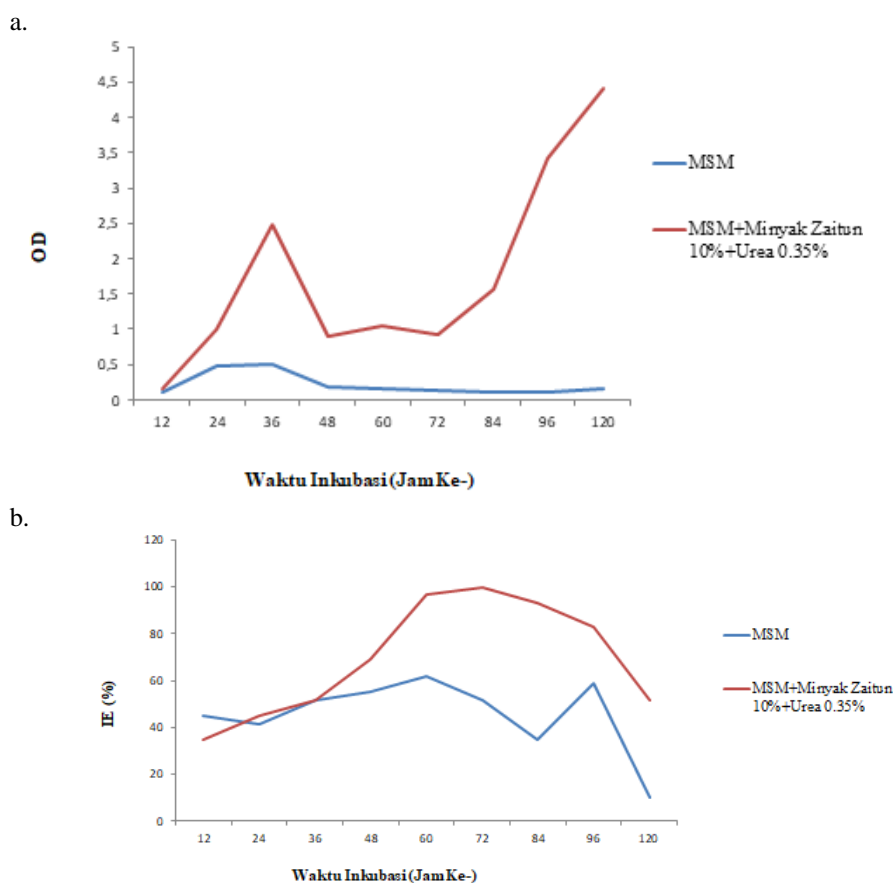
Berdasarkan Tabel 1, dapat diketahui bahwa isolat bakteri lokal PKT D4 mempunyai kemampuan memproduksi senyawa biosurfaktan secara optimum dengan menggunakan urea 0,35% sebagai sumber nitrogennya dengan nilai indeks emulsi sebesar 62,06% dan zona bening uji *oil spreading* sebesar 5,8 cm serta memberikan hasil positif pada uji *drop collapse*.

Minyak goreng dan urea dinyatakan sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk produksi senyawa biosurfaktan pada *V. salarius* menghasilkan indeks emulsi maksimum sebesar 85% (Elazzazy *et al.* 2015). Urea

dan gula dinyatakan sebagai sumber nitrogen dan karbon yang digunakan untuk produksi senyawa biosurfaktan pada bakteri *thermophilic B. subtilis* dengan indeks emulsi sebesar 60,54 % (Zhang *et al.* 2016).

2. Waktu Optimum

Optimasi ini dilakukan dengan penambahan urea 0,35% sebagai sumber nitrogen pada media MSM dan minyak zaitun 10% sebagai sumber karbon. Pada penelitian ini waktu optimum produksi biosurfaktan dilakukan dengan variasi waktu inkubasi selama 120 jam. Sampling dilakukan setiap 12 jam sekali selama waktu inkubasi, kemudian pengukuran *Optical Density* (OD) dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Sebagai perbandingan juga dilakukan uji emulsifikasi yang mana nilai indeks emulsifikasi dapat dijadikan sebagai salah satu parameter produksi biosurfaktan dan dapat menentukan waktu optimum produksi. Hasil penentuan waktu optimum produksi biosurfaktan isolat bakteri PKT D4 dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Kurva waktu optimum produksi biosurfaktan dengan pengukuran: (a) *Optical Density* (OD); (b) Indeks Emulsifikasi

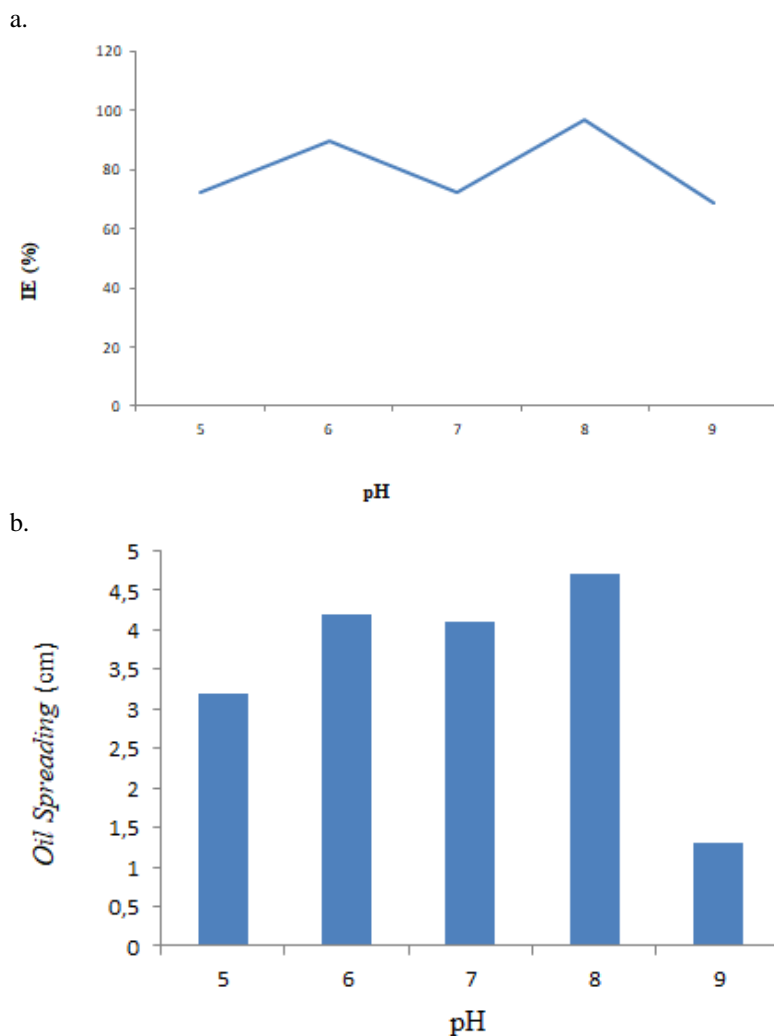
Berdasarkan kurva yang terbentuk pada Gambar 4 (a) melalui penentuan nilai OD (*optical density*), terlihat kurva yang kurang beraturan. Hal tersebut dikarenakan yang terukur adalah kepadatan bakteri yang terlihat sebagai kekeruhan medium, sehingga tidak dapat menutup kemungkinan bakteri yang telah mati pun ikut terukur. Kurva yang terbentuk pada Gambar 5 (b), isolat lokal yang ditumbuhkan pada MSM tanpa sumber karbon dan nitrogen mengalami fase lag (adaptasi) pada jam ke-0 sampai jam ke-24 dan isolat yang ditumbuhkan pada MSM ditambahkan dengan 10% minyak zaitun sebagai sumber karbon dan 0,35% urea sebagai sumber nitrogen terlihat mengalami fase lag (adaptasi) pada jam ke-0 sampai jam ke-36.

Isolat yang ditumbuhkan pada MSM yang telah ditambah minyak zaitun 10% dan 0,35% urea mengalami fase dipercepat (eksponensial) pada jam ke 36 sampai jam ke 60, mengalami fase stasioner pada jam ke 60 sampai jam ke 84 kemudian mengalami fase kematian, sedangkan pada isolat yang ditumbuhkan pada MSM saja, mengalami fase dipercepat (eksponensial) pada jam ke 24 sampai jam ke 48 lalu mengalami fase stasioner pada jam ke 48 sampai jam ke 72 lalu mengalami fase kematian. Biosurfaktan memang suatu senyawa hasil dari

metabolit sekunder yang diproduksi atau ekskresi secara di luar sel. Biosurfaktan sengaja disekresikan ke dalam medium untuk meningkatkan ketersediaan substrat yang hidrofobik (Terziyski *et al.* 2014). Sehingga berdasarkan grafik pada Gambar 5 (b), isolat PKT D4 dapat memproduksi senyawa biosurfaktan secara optimum pada jam ke-72.

3. pH Optimum

Bakteri isolat lokal PKT D4 ditumbuhkan pada media selektif dengan 10% sumber karbon dan 0,35% sumber nitrogen dengan berbagai perlakuan pH. pH yang digunakan yaitu 5,6,7,8, dan 9. Setelah itu isolat dengan perlakuan pH tersebut diinkubasi selama waktu optimum yaitu 72 jam. pH optimum dapat diketahui melalui hasil dari uji senyawa biosurfaktan yaitu uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drops collapse*. Hasil penentuan pH optimum pada isolat lokal PKT D4 dapat dilihat pada Gambar 5.



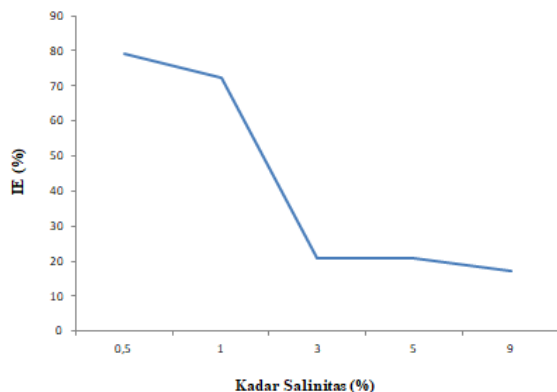
Gambar 5 pH optimum produksi biosurfaktan: (a) indeks emulsi; (b) *oil spreading*

Berdasarkan Gambar 5, terlihat pH optimum dalam memproduksi senyawa biosurfaktan oleh bakteri isolat lokal PKT D4 pada MSM dengan 10% minyak zaitun dan 0,35% urea adalah pada pH 6 dan 8, namun pada pH 8 memiliki nilai indeks emulsi (IE) mencapai 96,55%, lebih besar dibandingkan pH 6. Berdasarkan pengamatan yang diperoleh pada uji *oil spreading* pH 8 menghasilkan zona bening selebar 4,7 cm dan uji *drops collapse* pada seluruh perlakuan pH memberikan hasil uji yang positif. Pada *Pseudomonas putida* MTCC 2467, pH 8 dilaporkan optimal untuk produksi biosurfaktan (Kanna *et al.* 2014) yang mirip dengan penelitian ini.

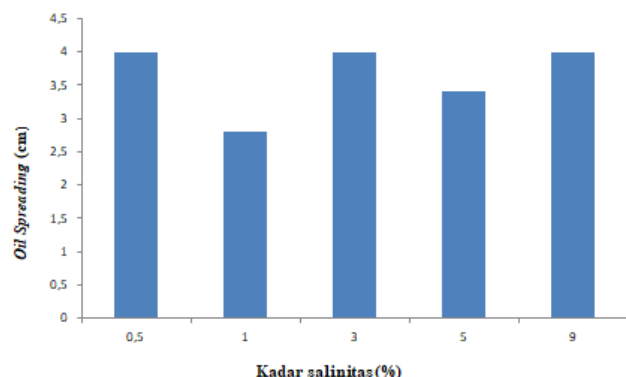
4. Kadar Salinitas Optimum

Pengaruh kadar salinitas terhadap kemampuan isolat bakteri dalam memproduksi biosurfaktan dapat dilihat berdasarkan hasil dari uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse*. Biosurfaktan yang diproduksi oleh *Bacillus subtilis* B20, aktivitas permukaannya semakin menurun seiring dengan peningkatan kadar salinitas (Udoh and Vinogradov 2019). Kadar salinitas optimum isolat bakteri lokal PKT D4 dalam menghasilkan biosurfaktan dapat dilihat pada Gambar 6.

a.



b.



Gambar 6 Kadar salinitas optimum produksi biosurfaktan: (a) indeks emulsi; (b) *oil spreading*

Berdasarkan grafik pada Gambar 6, dapat diketahui bahwa bakteri isolat lokal PKT D4 memiliki kemampuan yang optimum dalam memproduksi biosurfaktan pada kadar salin sebesar 0,5% dengan indeks emulsi mencapai 79,31% dan lebar zona bening pada *oil spreading* 4 cm. Hasil dari uji *drop collapse* menyatakan hasil uji yang positif pada semua perlakuan kadar salin.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa mikroba indigen isolat lokal PKT D4 memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan pada kondisi optimum yaitu sumber karbon minyak zaitun 10%, sumber nitrogen urea 0,35% dalam MSM 100 mL pada waktu 72 jam dengan pH 8 dan kadar salinitas 0,5% dengan indeks emulsi mencapai 79,31%, lebar zona bening pada *oil spreading* 4 cm dan uji *drop collapse* menunjukkan hasil positif.

Daftar Pustaka

- A. A. Bodour and R. M. Miller-Maier, Application of a modified drop-collapse technique for surfactant quantitation and screening of biosurfactant-producing microorganisms, *Journal of Microbiological Methods*, 32, 3. (1998), 273–280 doi: 10.1016/S0167-7012(98)00031-1.

- A. M. Elazzazy, T. S. Abdelmoneim, and O. A. Almaghrabi, Isolation and characterization of biosurfactant production under extreme environmental conditions by alkali-halo-thermophilic bacteria from Saudi Arabia, *Saudi J. Biol. Sci.*, 22, 4, (2015), 466–475 doi: 10.1016/j.sjbs.2014.11.018.
- A. Pandey, M. Mishra, and V. Rai, Optimization and Characterization of Biosurfactant Producing Microbes and Expression of Biosurfactant Producing Genes in Non Biosurfactant Producing Microbes, *International Journal of Pharmaceutical Research and Allied Sciences*, 3, 1, (2014), 47–56, 2014.
- C. O. Onwosi and F. J. C. Odibo, Effects of carbon and nitrogen sources on rhamnolipid biosurfactant production by *Pseudomonas nitroreducens* isolated from soil, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 28, 3, (2012), 937–942 doi: 10.1007/s11274-011-0891-3.
- D. Sharma, B. Saharan, and R. Sahu, A Review on Biosurfactants : Fermentation , Current Developments and Perspectives . Genetic Engineering and Biotechnology Journal , V ... A Review on Biosurfactants : Fermentation , Current De, 20, 2, (2011), 29–32.
- H. Heryani and M. D. Putra, Dataset on Potential Large Scale Production of Biosurfactant using *Bacillus sp.*, *Data Br.*, 13, (2017), 196–201 doi: 10.1016/j.dib.2017.05.037.
- H. S. El-Sheshtawy and M. M. Doheim, Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for biosurfactant production and studies of its antimicrobial activity, *Egyptian Journal of Petroleum*, 23, 1. (2014), 1–6 doi: 10.1016/j.ejpe.2014.02.001.
- I. Terziyski, L. Alexandrova, I. Stoineva, N. Christova, R. Todorov, and R. Cohen, Foam and Wetting Films from Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* BN10. Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp, 460, (2014), 299–305 doi: 10.1016/j.colsurfa.2013.12.075.
- J. F. B. Pereira *et al.*, Optimization and characterization of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* isolates towards microbial enhanced oil recovery applications, *Fuel*, 111, (2013). 259–268 doi: 10.1016/j.fuel.2013.04.040.
- J. Zhang, Q. Xue , H. Gao, H. Lai, and P. Wang, Production of Lipopeptide Biosurfactants by *Bacillus atrophaeus* 5-2a and Their Potential use in Microbial Enhanced Oil Recovery, *Microb. Cell Fact*, 15, 1, (2016), 1–12 doi: 10.1186/s12934-016-0574-8.
- M. Gozan, N. F. Izzah, N. Cut, and H. Abdul, Produksi Biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi, *War. Ind. Has. Pertan*, 31, 2 (2014), 39–44.
- M. M. Yakimov, K. N. Timmis, V. Wray, and H. L. Fredrickson, Characterization of a new lipopeptide surfactant produced by thermotolerant and halotolerant subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50, *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 5, (1995), 1706–1713 doi: 10.1128/aem.61.5.1706-1713.1995.
- M. Morikawa, Y. Hirata, and T. Imanaka, A study on the structure-function relationship of lipopeptide biosurfactants, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids*, 1488, 3, (2000), 211–218 doi: 10.1016/S1388-1981(00)00124-4.
- P. Suwansukho, V. Rukachisirikul, F. Kawai, and A. H-Kittikun, Production and applications of biosurfactant from *Bacillus subtilis* MUV4, *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 30, SUPPL. 1, (2008), 87–93.
- R. Kanna, S. N. Gummadi, S. G. Kumar, Production and Characterization of Biosurfactant by *Pseudomonas putida* MTCC 2467. *J. Biol. Sci*, 14, 6, (2014), 436–445.
- R. Reningtyas and Mahreni, Biosurfaktan Biosurfactant, *Eksergi*, XII, 2, (2015), 12–22.
- S. Techaoei, S. Lumyong, W. Prathumpai, D. Santiarwar, and P. Leelapornp, Screening Characterization and Stability of Biosurfactant Produced by *Pseudomonas aeruginosa* SCMU106 Isolated from Soil in Northern Thailand, *Asian Journal of Biological Sciences*, 4, 4. (2011), 340–351 doi: 10.3923/ajbs.2011.340.351.
- T. Udoh and J. Vinogradov. Experimental Investigations of Behaviour of Biosurfactants in Brine Solutions Relevant to Hydrocarbon Reservoirs. *Colloids and Interfaces*, 3, 1, (2019), 1-15 doi: 10.3390/colloids3010024.
- V. D. Cahyani, Seleksi Bakteri Penghasil Biosurfaktan dari Mikroba Indigen dan Optimasi Produksi pada Sumber Karbon yang Berbeda, Jurusan Kimia, Universitas Lampung, Lampung, 2020.

V. Suryanti, S. Hastuti, and D. S. Handayani, Biosynthesis of Biosurfactant By *Pseudomonas Aeruginosa* using Cassava Flour Industrial Wastewater as Media, *ALCHEMY J. Penelit*, 10, 1, (2016), 22-30.