



**SKRIPSI**

**PENGARUH SUMBER KARBON DAN NITROGEN  
PADA PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH  
BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* BIOPA  
2411**

**SANINDRI RAHAYU  
NRP 1410 100 062**

**Dosen Pembimbing  
Drs. Refdinal Nawfa, MS.**

**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA  
2015**



**SCRIPT**

**EFFECT OF CARBON AND NITROGEN  
SOURCES ON PRODUCTION OF  
BIOSURFACTANT BY *Pseudomonas  
aeruginosa* BIOPA 2411**

**SANINDRI RAHAYU  
NRP 1410 100 062**

**Advisor Lecturer  
Drs. Refdinal Nawfa, MS.**

**CHEMISTRY DEPARTMENT  
FACULTY OF MATHEMATICS AND SCIENCES  
SEPULUH NOPEMBER INSTITUT OF TECHNOLOGY  
SURABAYA  
2015**

# LEMBAR PENGESAHAN

## PENGARUH SUMBER KARBON DAN NITROGEN PADA PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* BIOPA 2411

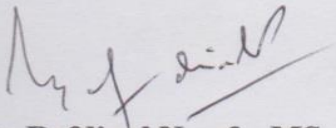
### SKRIPSI

Disusun Oleh:

**SANINDRI RAHAYU**  
**NRP. 1410 100 062**

Surabaya, 26 Januari 2015

Menyetujui,  
Dosen Pembimbing,



**Drs. Refdinal Nawfa, MS.**  
**NIP. 19580425 1987001 1 001**

Mengetahui :  
Ketua Jurusan Kimia,



**Hamzah Fansuri, M.Si, Ph.D**  
**NIP. 19691017 199412 1 001**

**PENGARUH SUMBER KARBON DAN NITROGEN  
PADA PRODUKSI BIOSURFAKTAN OLEH  
BAKTERI *Pseudomonas aeruginosa* BIOPA 2411**

**Nama** : Sanindri Rahayu  
**NRP** : 1410100062  
**Jurusan** : Kimia FMIPA-ITS  
**Dosen Pembimbing** : Drs. Refdinal Nawfa, MS.

**Abstrak**

Penelitian pembentukan biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* telah dilakukan. Kemampuan bakteri dalam menghasilkan biosurfaktan diukur dengan cara mengendapkan biosurfaktan yang dihasilkan. Variasi sumber karbon dan nitrogen dilakukan untuk mendapatkan kondisi optimal dalam pembentukan biosurfaktan oleh bakteri yang digunakan. Biosurfaktan yang telah diperoleh ditentukan aktivitasnya dengan uji emulsifikasi. Hasil uji aktivitas pada variasi sumber karbon dan nitrogen menunjukkan kondisi optimum pembentukan biosurfaktan pada substrat minyak zaitun dan sumber nitrogen  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dengan menghasilkan pembentukan berupa biosurfaktan sebesar 0,026 gram per liter per jam.

**Kata Kunci:** biosurfaktan, *Pseudomonas aeruginosa*, uji aktivitas emulsifikasi

**EFFECT OF CARBON AND NITROGEN SOURCES ON  
PRODUCTION OF BIOSURFACTANT BY *Pseudomonas  
aeruginosa* BIOPA 2411**

**Name** : Sanindri Rahayu  
**NRP** : 1410100062  
**Major** : Kimia FMIPA-ITS  
**Supervisor** : Drs. Refdinal Nawfa, MS.

**Abstract**

Biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* had been studied. The ability of bacteria to produce biosurfactant was measured by precipitating biosurfactant. Variation of carbon and nitrogen sources was performed to obtain the optimal conditions in the production of biosurfactant. Biosurfactant was determined by emulsification method. The result indicated optimum conditions on production of biosurfactant were the substrate olive oil and a source of nitrogen  $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  with yield 0.026 grams per liter per hour.

**Keywords** : biosurfactant, *Pseudomonas aeruginosa*, emulsification method

## KATA PENGANTAR

*Alhamdulillahirobbil'alamin.* Puji syukur kehadiran Allah SWT yang selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan dengan baik naskah Skripsi yang berjudul “**Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen Pada Produksi Biosurfaktan Oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Biopa 2411**”. Tulisan ini tidak akan terwujud tanpa bantuan, dukungan, doa serta dorongan semangat dari semua pihak. Untuk itu penulis sangat berterima kasih kepada:

1. Drs. Refdinal Nawfa MS., selaku Kepala Laboratorium Kimia Mikroorganisme dan Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan naskah Skripsi ini.
2. Prof. Dr. Surya Rosa Putra yang telah membantu secara administrasi dalam penyusunan Skripsi ini.
3. Kedua orang tua yang selalu memberi dukungan, doa, serta semangat yang tiada henti.
4. Orang yang menyayangi dan mencintai saya, yang selalu membantu dan senantiasa memberikan semangat serta motivasi dalam pengerjaan Skripsi ini.
5. Rekan-rekan seperjuangan di Laboratorium Kimia Mikroorganisme atas semua bantuan, semangat, doa dan dukungannya.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa penulisan naskah Skripsi ini tidak lepas dari kekurangan, oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk dapat meningkatkan kualitas dan perbaikan lebih lanjut. Semoga Skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan pembaca.

Surabaya, 26 Januari 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	<b>xiii</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN .....</b>	<b>xiv</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Permasalahan .....	4
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Batasan Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI.....</b>	<b>5</b>
2.1 Bioremediasi.....	5
2.1.1 Jenis-Jenis Bioremediasi .....	5
2.1.1.1 Bioremediasi yang Melibatkan Mikroba .....	6
2.1.1.2 Bioremediasi Berdasarkan Lokasi .....	7
2.2 Biodegradasi .....	8

2.3 Surfaktan.....	9
2.4 Biosurfaktan .....	11
2.5 Rhamnolipid .....	12
2.6 Pseudomonas aeruginosa.....	14
2.7 Kurva Pertumbuhan.....	15
2.7.1 Fase Adaptasi .....	16
2.7.2 Fase Perbanyakan.....	17
2.7.3 Fase Statis .....	18
2.7.4 Fase Kematian .....	18
2.8 Metode Pengukuran Pertumbuhan Mikroba.....	19
2.8.1 Metode Penentuan Massa Sel Secara Langsung ....	20
2.8.2 Metode Penentuan Massa Sel Secara Tidak Langsung .....	23
2.9 Ekstraksi .....	23
2.10 Spektrofotometer UV-Vis.....	26
<b>BAB III METODOLOGI PERCOBAAN .....</b>	<b>29</b>
3.1 Alat dan Bahan .....	29
3.1.1 Alat .....	29
3.1.2 Bahan .....	29
3.2 Prosedur Penelitian.....	30
3.2.1 Pemeliharaan bakteri P.aeruginosa Lokal.....	30



3.2.2 Pengaruh Variasi Sumber Karbon Pada Pembentukan Biomassa dan Biosurfaktan.....	30
3.2.3 Uji Jenis Hidrokarbon Terbaik Untuk Emulsifier....	31
3.2.4 Pengaruh Variasi Nitrogen Pada Pembentukan Biomassa dan Biosurfaktan.....	32
3.2.5 Produksi dan Pemisahan Biosurfaktan .....	32
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
4.1 Pemeliharaan bakteri P.aeruginosa Lokal.....	33
4.2 Pengaruh Variasi Sumber Karbon Pada Pembentukan Biomassa P.aeruginosa Lokal .....	34
4.3 Pengaruh Variasi Sumber Nitrogen Pada Pembentukan Biomassa P.aeruginosa Lokal .....	36
4.4 Hasil Uji Jenis Hidrokarbon Terbaik Untuk Emulsifier ..	38
4.5 Hasil Uji Kandungan Biosurfaktan Pada Variasi Sumber Karbon.....	38
4.6 Hasil Uji Kandungan Biosurfaktan Pada Variasi Sumber Nitrogen .....	40
4.7 Produksi dan Pemisahan Biosurfaktan .....	41
4.8 Uji Aktivitas Emulsifikasi .....	42
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>45</b>
5.1 Kesimpulan.....	45
5.2 Saran .....	45

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>55</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Surfaktan.....	9
Gambar 2.2 Cara Kerja Surfaktan .....	10
Gambar 2.3 Struktur Rhamnolipid .....	13
Gambar 2.4 Bakteri Pseudomonas aeruginosa .....	15
Gambar 2.5 Kurva Pertumbuhan mikroba.....	17
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan bakteri P.aeruginosa local dalam media pertumbuhan variasi sumber karbon .....	35
Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan bakteri P.aeruginosa dalam media pertumbuhan variasi sumber nitrogen .....	37
Gambar 4.3 Grafik aktivitas emulsifikasi biosurfaktan pada variasi sumber karbon .....	39
Gambar 4.4 Grafik aktivitas emulsifikasi biosurfaktan pada variasi sumber nitrogen .....	40
Gambar 4.5 Hasil uji emulsifikasi .....	42

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Contoh biosurfaktan yang telah diproduksi secara biotransformasi .....	12
Tabel 4.1 Aktivitas emulsifikasi pada media PPGAS .....	38

## **DAFTAR TABEL**

Tabel 2.1 Contoh biosurfaktan yang telah diproduksi secara biotransformasi.....	12
Tabel 4.1 Aktivitas emulsifikasi pada media PPGAS .....	38

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur Surfaktan .....	9
Gambar 2.2 Cara Kerja Surfaktan .....	10
Gambar 2.3 Struktur Rhamnolipid .....	13
Gambar 2.4 Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
Gambar 2.5 Kurva Pertumbuhan mikroba .....	17
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan bakteri <i>P.aeruginosa</i> local dalam media pertumbuhan variasi sumber karbon .....	35
Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan bakteri <i>P.aeruginosa</i> dalam media pertumbuhan variasi sumber nitrogen.....	37
Gambar 4.3 Grafik aktivitas emulsifikasi biosurfaktan pada variasi sumber karbon.....	39
Gambar 4.4 Grafik aktivitas emulsifikasi biosurfaktan pada variasi sumber nitrogen .....	40
Gambar 4.5 Hasil uji emulsifikasi.....	42

## **DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran A. Skema Kerja .....	55
Lampiran B. Perhitungan.....	58

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Seiring dengan perkembangan jaman, kegiatan eksplorasi, eksploitasi dan konsumsi minyak bumi memungkinkan terjadinya tumpahan dan pembuangan yang memicu pelepasan polutan hidrokarbon kealam yang menyebabkan permasalahan lingkungan dan mengganggu kesehatan manusia (Boulding, 1996). Metode pengolahan limbah minyak bumi sering kali memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk pengolahannya yaitu dengan metode yang dikenal sebagai bioremediasi. (Obayori, 2009).

Mengingat pencemaran berkelanjutan dan sifat beracun dari hidrokarbon minyak, pengembangan strategi bioremediasi yang efektif masih menemui permasalahan. Penempatan pendegradasi hidrokarbon pada tempat tercemar telah lama dipraktekkan sebagai strategi remediasi, dan pentingya bakteri pendegradasi minyak mentah yang memiliki kemampuan untuk mengelmsu hidrokarbon dalam larutan dengan memproduksi biosurfaktan (Barathi dan Vasudevan, 2001; Rahman dkk., 2002; Verma dkk., 2006). Pemberian surfaktan, termasuk biosurfaktan, akan dapat meningkatkan kelarutan konsentrasi senyawa hidrofobik dan memberikan kemudahan ketersediaan hidrokarbon oleh mikroba (Ni'matuzahroh dkk., 2001).

Pengembangan surfaktan dengan jenis dan sifat yang baru sangat penting untuk dilakukan. Salah satunya adalah pemanfaatan mikroorganisme. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa diantara mikroba tersebut ada yang mampu menghasilkan biosurfaktan. Biosurfaktan banyak diminati karena sifatnya yang ramah lingkungan dengan *biodegradable* (dapat terdegradasi secara alami) dan tidak toksik (Mulligan, 2005). Keuntungan



biosurfaktan dibandingkan dengan surfaktan kimia antara lain: dapat diuraikan, tidak beracun, bahan baku pembuatan murah, seperti bahan-bahan atau limbah organik sebagai sumber karbon (Mulliawati, 2006).

Biosurfaktan dapat diproduksi dengan berbagai substrat misalnya karbohidrat, lipid dan protein. Produksi biosurfaktan oleh mikroba tergantung dari jenis mikroorganisme dan kondisi pertumbuhan seperti sumber karbon, sumber nitrogen, pH dan temperatur (Kosaric dkk., 1987). Sebagai sumber karbon tambahan dalam produksi biosurfaktan telah digunakan beberapa minyak nabati, diantaranya adalah minyak kelapa dan minyak bekas penggorengan (Haba dkk., 1999; Rahman dan Sadi, 1998).

Biosurfaktan dapat digolongkan kedalam beberapa kelompok seperti glikolipid, lipopeptida, lipopolisakarida, fosfolipid dan asam lemak. Biosurfaktan yang paling banyak dipelajari adalah kelompok glikolipid yang dikenal sebagai rhamnolipid (Mulliawati, 2006). Keunggulan rhamnolipid yaitu mampu membentuk mikroemulsi antara dua material atau bahan yang berbeda fasenya. Selain itu, pemanfaatan rhamnolipid juga melingkupi berbagai bidang, antara lain: pengendali hama tanaman pangan (Vatsa dkk., 2010), sebagai bahan emulsifier (Muthusamy dkk., 2008), bahan campuran kosmetik (Lourith dan Kanlavattanakul, 2009) dan digunakan untuk bioremediasi senyawa terhadap tanah dan air yang terkontaminasi senyawa hidrokarbon (Banat dkk., 2010; Nitschkea dkk., 2011, Thavasi dkk., 2011). Berdasarkan hal tersebut, dipilihlah rhamnolipid sebagai biosurfaktan yang diproduksi dalam penelitian ini.

*Pseudomonas aeruginosa* adalah bakteri yang dapat menghasilkan produk rhamnolipid. Banyak penelitian telah menunjukkan bahwa *P. aeruginosa* dapat digunakan dalam sintesis beberapa senyawa secara biotransformasi. *P. aeruginosa* telah digunakan dalam sintesis biosurfaktan rhamnolipid dari

glukosa. Selain itu, *P. aeruginosa* juga telah dapat digunakan untuk biotransformasi beberapa asam lemak tidak jenuh, yaitu asam linoleat menjadi asam 12, 13, 17-trihidroksi-(z)-oktadekanoat (Kim dkk., 2000) dan asam resinoleat menjadi asam 7, 10, 12-trihidroksi-8-(E)-oktadekanoat (Kuo dkk., 2001).

Selain *P. aeruginosa*, bakteri yang dapat memproduksi rhamnolipid adalah *Pseudomonas nitroreducens* dan *Thermos thermophilus* (Pantazaki dkk., 2010). Onwosi dan Ondibo (2012) telah mempelajari efek sumber karbon dan sumber nitrogen terhadap produksi biosurfaktan rhamnolipid dari *P. nitroreducens* yang diisolasi dari tanah. Hasilnya menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon yang terbaik dari beberapa sumber karbon yang telah diteliti. Konsentrasi maksimum rhamnolipid yang dihasilkan yaitu 5,28 g/l.  $\text{NaNO}_3$  merupakan sumber nitrogen yang terbaik dibandingkan urea dan yeast ekstrak. Konsentrasi maksimum rhamnolipid yang dihasilkan yaitu 4,38 g/l.

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk memproduksi rhamnolipid dengan menggunakan sumber karbon seperti glukosa, gliserol, asam lemak dan berbagai minyak dari tanaman seperti minyak kacang kedelai, minyak bunga matahari (Pantazaki dkk., 2010), minyak jagung (Rosa dkk., 2010), dan minyak sawit (Makkar dkk., 2011;). Sumber nitrogen seperti  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$  (Rashedi dkk., 2006), urea,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{KNO}_3$  dan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Yataghene dkk., 2008). Penggunaan media yang berbeda akan menghasilkan sifat dan karakter rhamnolipid yang berbeda pula. Media ini sangat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan molekul yang dapat dibiotransformasi oleh mikroorganisme tersebut. Produksi rhamnolipid dengan berbagai sumber karbon dan nitrogen menghasilkan sifat yang khas dan diharapkan dapat berguna dalam bidang industri ataupun lingkungan hidup.

Penggunaan *P. aeruginosa* lokal untuk memproduksi biosurfaktan telah dilakukan pada temperatur optimum  $35^\circ\text{C}$  (

Meita, 2013). Namun, pengaruh sumber karbon dan nitrogen untuk produksi biosurfaktan menggunakan *P. aeruginosa* biopa 2411 belum dioptimasi.

## **1.2 Rumusan Permasalahan**

Berdasarkan latar belakang diatas, maka permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah sumber karbon dan sumber nitrogen manakah yang paling baik untuk produksi biosurfaktan oleh *P. aeruginosa* biopa 2411.

## **1.3 Tujuan**

Penelitian yang dilaksanakan bertujuan untuk mengetahui sumber karbon dan sumber nitrogen yang paling baik pada produksi biosurfaktan oleh *P. aeruginosa* biopa 2411.

## **1.4 Batasan Penelitian**

Berdasarkan identifikasi masalah tersebut, uji kandungan biosurfaktan yang dihasilkan hanya dibatasi menggunakan metode emulsifier. Metode ini telah dipakai oleh peneliti sebelumnya dalam menentukan kapasitas emulsifikasi biosurfaktan yang dihasilkan. Metode ini merupakan salah satu parameter penentuan kualitas biosurfaktan terbaik (Suryatmana, 2006). Menurut Fatimah (2007) biosurfaktan semakin baik kualitasnya apabila semakin meningkatkan nilai emulsifikasinya. Metode yang sama juga digunakan oleh Johnson dkk. (1992) untuk menguji kandungan biosurfaktan dalam supernatant. Sumber karbon dan nitrogen yang diujikan dibatasi hanya menggunakan minyak zaitun, tepung beras, glukosa, dekstrosa, sukrosa,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , lisin dan tirosin.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA DAN DASAR TEORI**

#### **2.1 Bioremediasi**

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme untuk mengurangi polutan di lingkungan. Saat bioremediasi terjadi, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme secara ekstraseluler memodifikasi polutan beracun dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, sebuah peristiwa yang disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi, dimana polutan beracun terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit yang tidak berbahaya dan tidak beracun (Brooker dkk., 2008). Hidrokarbon yang telah didegradasi oleh bakteri akan digunakan sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhannya. Bioremediasi bukanlah konsep baru dalam mikrobiologi terapan, karena mikroba telah banyak digunakan selama bertahun-tahun dalam mengurangi senyawa kimia toksik atau beracun.

Saat ini, bioremediasi telah berkembang pada perawatan limbah buangan yang berbahaya (senyawa-senyawa kimia yang sulit untuk didegradasi), yang biasanya dihubungkan dengan kegiatan industri. Polutan-polutan ini antara lain logam-logam berat, hidrokarbon minyak bumi, dan senyawa-senyawa organik seperti pestisida, herbisida, dan lain-lain.

##### **2.1.1 Jenis-Jenis Bioremediasi**

Jenis-jenis bioremediasi dapat dibedakan menjadi dua yaitu bioremediasi yang melibatkan mikroba dan bioremediasi berdasarkan lokasinya.

### **2.1.1.1 Bioremediasi yang Melibatkan Mikroba**

Teknologi bioremediasi dalam menstimulasi pertumbuhan mikroba dilakukan dengan tiga cara, yaitu:

- **Bioaugmentasi**

Metode bioaugmentasi dilakukan dengan penambahan satu atau lebih mikroorganisme baik yang alami maupun sudah mengalami perbaikan sifat. Mikroorganisme yang dapat membantu membersihkan kontaminan tertentu kemudian ditambahkan ke dalam air atau tanah yang tercemar. Namun, metode bioaugmentasi ini membutuhkan banyak perhatian karena sangat sulit untuk mengontrol kondisi situs yang tercemar agar mikroorganisme dapat berkembang dengan optimal. Para ilmuwan belum sepenuhnya mengerti seluruh mekanisme yang terkait dalam bioremediasi dan mikroorganisme yang dilepaskan ke lingkungan yang asing kemungkinan sulit untuk beradaptasi (Cookson, 1995).

- **Biostimulasi**

Biostimulasi adalah suatu proses yang dilakukan melalui penambahan zat gizi tertentu yang dibutuhkan oleh mikroorganisme (misalnya nutrient dan oksigen) atau menstimulasi kondisi lingkungan sedemikian rupa (misalnya pemberian aerasi) agar mikroorganisme tumbuh dan beraktivitas lebih baik. Nutrien dan oksigen dalam bentuk cair atau gas ditambahkan ke dalam air (Cookson, 1995). Bahan kimia aditif yang digunakan sebagai substrat, seperti metana, fenol dan toluena merupakan bahan beracun. Oleh karena itu, konsentrasi bahan kimia yang digunakan selama biostimulasi harus diamati dengan baik (Iwamoto dan Nasu, 2001).

- Bioremediasi Intrinsik

Bioremediasi jenis ini terjadi secara alami di dalam air atau tanah yang tercemar (Cookson, 1995).

### **2.1.1.2 Bioremediasi Berdasarkan Lokasi**

Bioremediasi berdasarkan lokasi dapat dilakukan secara dua cara, yaitu:

- Bioremediasi *in situ*

Bioremediasi *in situ*, yaitu proses pengelolaan limbah dengan memberi perlakuan langsung di lokasi pencemaran dengan mengandalkan kemampuan mikroorganisme yang telah ada di lingkungan tercemar untuk mendegradasinya. Bioremediasi ini memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan remediasi secara fisik dan kimia, antara lain: dapat dilakukan secara langsung di lokasi sehingga tidak membutuhkan biaya transportasi, dapat meminimalisasi kerusakan di lokasi pencemaran dan dapat digunakan pada kontaminan yang larut dan tersebar luas (Iwamoto dan Nasu, 2001).

Menurut Cookson (1995), bioremediasi *in situ* terbagi atas:

- Biostimulasi atau bioventing, yaitu metode bioremediasi dengan penambahan nutrient (N, P) dan aseptor elektron (O<sub>2</sub>) pada lingkungan pertumbuhan mikroorganisme untuk menstimulasi pertumbuhannya.
- Bioaugmentasi, yaitu metode bioremediasi dengan menambahkan organisme dari luar pada subpermukaan yang dapat mendegradasi kontaminan spesifik.
- Biosparging, yaitu metode bioremediasi dengan penambahan injeksi udara dibawah tekanan ke dalam air sehingga dapat meningkatkan konsentrasi oksigen dan kecepatan degradasi.

- Bioremediasi *ex situ*

Bioremediasi *ex situ*, yaitu bioremediasi yang dilakukan ditempat yang terpisah dari lokasi pencemaran. Bioremediasi ini bisa lebih cepat dan mudah dikontrol dibandingkan *in situ*, dan mampu meremediasi jenis kontaminan yang lebih beragam (Iwamoto dan Nasu, 2011).

Teknik *ex situ* terdiri atas:

- Landfarming, yaitu teknik dimana tanah yang terkontaminasi di gali dan dipindahkan pada lahan khusus yang secara periodik diamati sampai polutan terdegradasi.
- Composting, yaitu teknik yang melakukan kombinasi antara tanah terkontaminasi dengan tanah yang mengandung pupuk atau senyawa organik yang dapat meningkatkan populasi mikroorganisme.
- Biopoles, yaitu teknik yang merupakan perpaduan antara landfarming dan composting.
- Bioreaktor, yaitu teknik dengan menggunakan aqueous reactor pada tanah atau air yang terkontaminasi.

(Cookson, 1995).

## 2.2 Biodegradasi

Biodegradasi merupakan suatu proses yang penting bagi rehabilitasi lingkungan yang tercemar minyak bumi ataupun produk-produknya, memanfaatkan aktivitas mikroorganisme untuk menguraikan pencemar tersebut menjadi bentuk yang lebih sederhana, tidak berbahaya dan memberikan nilai tambah bagi lingkungan (Leahy dan Rita, 1990).

Biodegradasi dapat dilakukan dengan dua pendekatan, pertama dengan memanfaatkan mikroorganisme alamiah setempat untuk merombak polutan dengan cara memperbaiki kondisi pertumbuhan mikroorganisme yang bersangkutan. Pendekatan kedua merupakan inokulasi pada daerah terkontaminasi,

menggunakan inokulum mikroorganisme perombak polutan yang telah diisolasi dan dibiakkan di laboratorium (Gunalan, 1993).

### 2.3 Surfaktan

Surfaktan adalah salah satu produk kimia yang banyak sekali digunakan dalam industri besar ataupun rumah tangga, sehingga banyak disintesis karena pemakaiannya yang luas.

Molekul surfaktan adalah molekul amfifilik yang terdiri dari kepala hidrofilik (bagian polar) yang larut dalam air dan ekor hidrofobik (non polar) yang larut dalam minyak atau pelarut non polar, ditampilkan pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Struktur surfaktan

Bagian polar molekul yang mempunyai gugus hidroksil dapat berupa anion, kation atau nonion. Sementara bagian non polar biasanya berupa rantai alkil yang panjang atau cabang hidrokarbon. Karena sifatnya yang rangkap inilah surfaktan dapat diadsorpsi pada antar muka udara-air, minyak-air dan zat padat-air, membentuk lapisan tunggal dimana gugus hidrofilik berada pada fase air. Pada umumnya surfaktan disintesis dari turunan minyak bumi yang tidak dapat diperbarui dan limbahnya dapat mencemari lingkungan karena sifatnya yang sukar terdegradasi.



Surfaktan merupakan bahan aktif yang terdapat di sabun dan deterjen yang digunakan untuk memisahkan bahan-bahan berminyak dari media tertentu. Saat digunakan untuk mencuci, bagian hidrofilik dari sabun akan berikatan dengan air dan bagian hidrofobik akan berikatan dengan minyak. Minyak yang telah berikatan dengan sabun akan mudah terbawa oleh air sehingga terlepas dari permukaan benda. Gambar 2.2 berikut ini merupakan cara kerja surfaktan. Surfaktan diklasifikasikan sebagai surfaktan ionik dan non-ionik dengan berbagai struktur kimia menurut kelompok hidrofil mereka.



Gambar 2.2. Cara kerja surfaktan

Untuk aplikasi industri, surfaktan ionik diklasifikasikan berdasarkan muatan yang mereka bawa ketika terdisosiasi dalam air pada pH netral. Klasifikasi ini yaitu anionik (bermuatan negatif pada gugus hidrofilik), kationik (bermuatan positif pada gugus hidrofilik) dan zwitterionik atau amfoterik. Surfaktan amfoterik adalah surfaktan yang bermuatan positif dan negatif pada molekulnya, dimana muatannya bergantung pada pH. Pada pH

rendah akan bermuatan negatif dan pada pH tinggi akan bermuatan positif (Elvers dkk., 1994).

Surfaktan meningkatkan kelarutan *aqueous* dari fase cairan *nonaqueous* dengan mengurangi tegangan permukaan pada udara-air dan antarmuka air-minyak. Saat tegangan permukaan berkurang dan konsentrasi surfaktan *aqueous* meningkat, monomer menggumpal membentuk misel. Konsentrasi awal pada misel dikenal sebagai konsentrasi misel kritis (KMK). Konsentrasi ini sesuai dengan titik dimana surfaktan menunjukkan tegangan permukaan terendah. Banyak sifat-sifat fisik yang digunakan untuk mengkarakterisasi surfaktan tergantung pada KMK seperti: pembentukan emulsi, kelarutan minyak, kemampuan membentuk busa dan sifat deterjen, dan tegangan permukaan. Sifat ini dapat digunakan untuk menilai kesesuaian surfaktan untuk remediasi lingkungan, misalnya untuk remediasi tanah. Holmberg (2002) mengamati bahwa konsentrasi misel kritis surfaktan meningkat seiring dengan semakin meningkatnya gugus alkil hidrokarbon. KMK surfaktan non-ionik dua kali lebih pendek dibandingkan dengan surfaktan ionik. Umumnya, peningkatan suhu menurunkan KMK beberapa surfaktan non-ionik, tetapi meningkatkan kelarutan surfaktan ionik. Penambahan garam mengurangi KMK surfaktan ionik tetapi tidak begitu berpengaruh pada KMK surfaktan non-ionik.

## **2.4 Biosurfaktan**

Surfaktan yang dihasilkan dari material berbahan dasar kimia dikenal sebagai surfaktan sintesis dan surfaktan yang diproduksi oleh mikroba dikenal sebagai biosurfaktan. Pada umumnya, struktur kimia biosurfaktan terdiri atas gugus hidrofilik yang mengandung asam amino atau anion dan kation peptida, mono-, di-, atau polisakarida dan gugus hidrofobik yang mengandung asam lemak jenuh dan tidak jenuh. Biosurfaktan

dikelompokkan ke dalam enam kelas utama berdasarkan produk mikroorganismenya. Kelas-kelas ini terdiri dari glikolipid, fosfolipid, kompleks polisakarida-lipid, lipoprotein-lipopeptida, asam lemak hidroksilasi berikatan silang dan permukaan sel lengkap (Kosaric dkk., 1987). Contoh biosurfaktan yang telah dapat diproduksi secara biotransformasi dapat dilihat pada Tabel 2.1.

<b>Jenis</b>	<b>Sifat</b>	<b>Mikroorganisme</b>
Sophorolipid	Non-ionik atau anionik, ekstraseluler	<i>Torulopsis sp.</i> <i>Candida bogoriensis</i>
Rhamnolipid	Anionik, ekstraseluler	<i>Pseudomonas sp.</i>

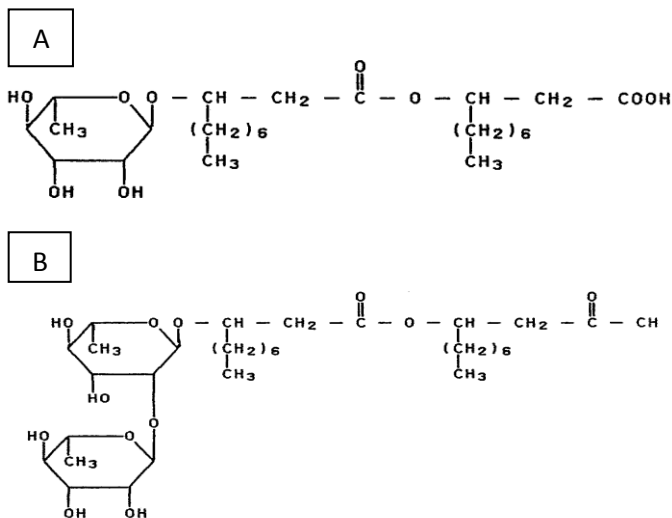
(Ghazali dan Ahmad, 1997)

Satu kelas surfaktan yang telah menerima perhatian dalam teknik remediasi adalah surfaktan yang dihasilkan oleh mikroba (biosurfaktan). Biosurfaktan menarik perhatian dalam remediasi karena beberapa alasan: (1) biosurfaktan memiliki struktur kimia yang unik yang mungkin memiliki sifat yang bermanfaat untuk remediasi, (2) biosurfaktan terbentuk secara alami, *biodegradable*, sehingga mungkin dapat diterima jika diberikan pada lokasi yang terkontaminasi, (3) produksi *ex situ* sehingga mungkin lebih efektif dalam biaya dibandingkan dengan surfaktan sintesis, (4) dimungkinkan untuk merangsang produksi *in situ* pada tempat yang terkontaminasi (Bai dkk., 1997).

## 2.5 Rhamnolipid

Rhamnolipid adalah biosurfaktan yang diproduksi oleh *P. aeruginosa*. Biosurfaktan ini masuk dalam golongan glikolipid yang terdiri dari satu atau dua molekul rhamnosa yang dihubungkan pada satu atau dua molekul asam  $\beta$ -

hidroksidekanoid. Gambar 2.3 berikut ini merupakan struktur rhamnolipid.



Gambar 2.3 (A) Struktur rhamnolipid RLL atau R1 (satu gugus rhamnosa) (B) Struktur rhamnolipid RRLl atau R2 (dua gugus rhamnosa).

Rhamnolipid bersifat anionik dan memiliki gugus karbonil dan hidroksil yang berpotensi untuk dipertukarkan dengan kation, sehingga dapat digunakan untuk menyerap logam berat (Nugraha, 2008). Rhamnolipid disintesis secara ekstraseluler atau bersamaan dengan dinding selnya. Jika ekstraseluler maka akan menyebabkan emulsifikasi dari sumber karbon, dan jika bersamaan dengan dinding selnya maka akan memfasilitasi penembusan sumber karbon ke ruang periplasmik dengan merubah struktur dari dinding selnya (Ghazali dan Ahmad, 2007).

Rhamnolipid disintesis dari bakteri ragi atau jamur. Ragi atau jamur lebih suka menggunakan n-alkana linear dan jenuh, sementara penambahan bakteri mendegradasi isoalkana dan

sikloalkana seperti senyawa aromatik tidak jenuh. Selama biosintesis rhamnolipid ada beberapa parameter yang mengontrol tipe dan jumlah yang diproduksi (Ghazali dan Ahmad, 2007).

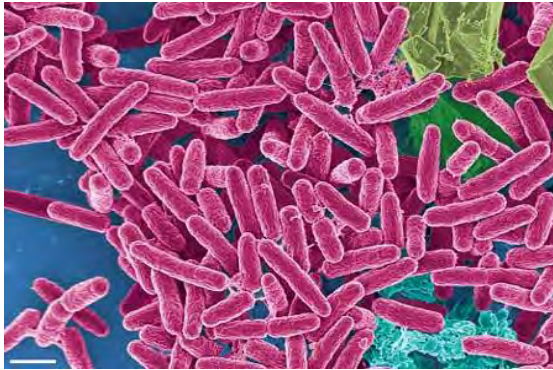
Aplikasi rhamnolipid dalam industri antara lain, emulsifikasi, detergensi, pembentukan busa, dispersi atau solubiliasi, anti mikroba, pembasahan dan antiadhesif. Rhamnolipid merupakan salah satu biosurfaktan yang paling efektif dalam menghilangkan senyawa hidrofobik pada tanah yang tercemar atau terkontaminasi. Namun, biaya untuk memproduksi rhamnolipid masih tergolong mahal jika dibandingkan dengan produksi surfaktan sintesis, oleh karena itu diperlukan usaha untuk menekan biaya produksi rhamnolipid menjadikannya lebih kompetitif dalam pasar surfaktan (Reis dkk., 2011).

## **2.6 *Pseudomonas aeruginosa***

Bakteri ini dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Pseudomonadales
Famili	: Pseudomonadaceae
Genus	: Pseudomonas
Spesies	: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

*P. aeruginosa* adalah bakteri kelompok 7 yaitu berbentuk batang dan gram negatif aerob obligat, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil dan ada juga yang non motil, berukuran sekitar 0,5-1,0  $\mu\text{m}$ . Bakteri ini tidak dapat menghasilkan spora dan tidak dapat memfermentasikan karbohidrat (Strohl dkk., 2001).



Gambar 2.4 Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*

Bakteri ini mempunyai metabolisme khusus pada beberapa spesies, yaitu dapat mengoksidasi senyawa-senyawa berkarbon satu, misalnya metana atau metanol dan ada beberapa spesiesnya yang dapat menghancurkan atau mendegradasi denitrifikasi dan sering resisten terhadap antibiotik.

Pada uji biokimia, bakteri ini memberikan hasil negatif pada uji indol metil merah dan Voges-Proskauer (Madigan dkk., 2008). Bakteri ini tersebar secara luas di alam, contohnya di tanah, air, tanaman dan hewan (Stohr dkk., 2001). Tumbuh secara optimal pada suhu 37 °C. Bakteri ini dapat hidup dan tumbuh pada nutrisi agar dan biasanya diikuti dengan produksi air hijau biru atau hijau kuning yang larut dalam phenazile pigmen pyocyanin (yang menjadi merah saat diasamkan) (Stover dkk., 2000).

## **2.7 Kurva Pertumbuhan**

Waktu generasi adalah waktu yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk meningkatkan jumlah sel menjadi dua kali lipat jumlah semula. Kurva pertumbuhan mikroorganisme terdiri atas empat fase yaitu fase penyesuaian, fase eksponensial atau fase logaritmik, fase stationer dan fase kematian. Pada fase eksponensial terjadi peningkatan jumlah sel dan digunakan untuk

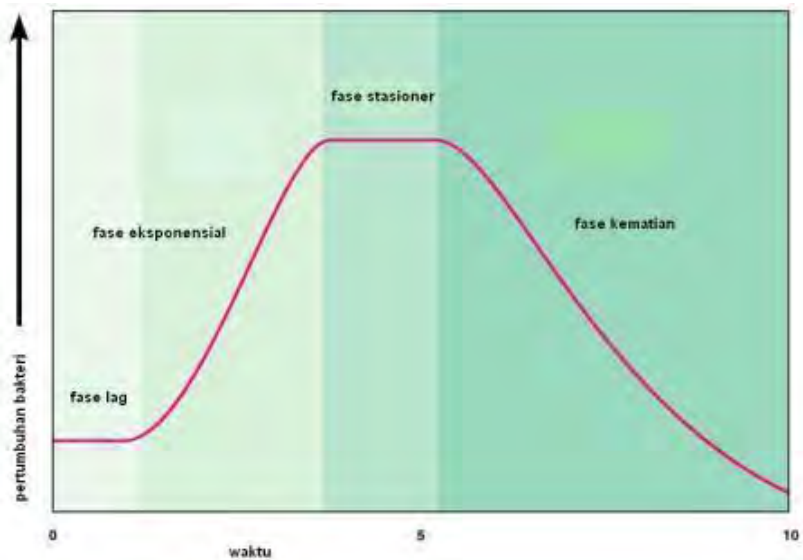
menentukan waktu generasi (Purwoko, 2007). Pertumbuhan pada mikroorganisme diartikan sebagai penambahan jumlah atau total massa sel yang melebihi inokulum asalnya. Sistem reproduksi bakteri adalah dengan cara pembelahan biner melintang, satu sel membelah menjadi dua sel anakan yang identik dan terpisah. Selang waktu yang dibutuhkan bagi sel untuk membelah diri menjadi dua kali lipat disebut sebagai waktu generasi. Waktu generasi pada setiap bakteri tidak sama, ada yang hanya memerlukan 20 menit bahkan ada yang memerlukan sampai berjam-jam.

Bila bakteri diinokulasikan ke dalam medium baru, pembiakan tidak segera terjadi tetapi ada periode penyesuaian pada lingkungan yang dikenal dengan pertumbuhan. Kemudian akan memperbanyak diri (replikasi) dengan laju konstan, sehingga akan diperoleh kurva pertumbuhan. Berikut ini fase kurva pertumbuhan:

### **2.7.1 Fase Adaptasi (*Lag Phase*)**

Pada fase ini tidak ada penambahan populasi mikroba. Akan tetapi terjadi penambahan volume sel karena pada fase statis biasanya sel melakukan pengecilan ukuran (Purwoko, 2007). Sel mengalami perubahan dalam komposisi kimiawi dan bertambah ukurannya, substansi intraseluler bertambah (Perlezar, 2000).

Ketika sel dalam fase statis dipindahkan ke media baru, sel akan melakukan proses adaptasi. Proses adaptasi meliputi sintesis enzim baru yang sesuai dengan medianya dan pemulihan terhadap metabolit yang bersifat toksik (misalnya asam, alkohol dan basa) pada waktu media lama (Purwoko, 2007).



Gambar 2.5 Kurva pertumbuhan mikroba

### 2.7.2 Fase Perbanyakan (Logaritma atau Exponential Phase)

Pada fase ini pembiakan bakteri berlangsung paling cepat dan paling baik sekali untuk dijadikan inokulum (Dwidjuseputro, 1998). Sel akan membelah dengan laju pertumbuhan konstan dengan keadaan pertumbuhan yang seimbang (Pelezar, 2005). Setelah memperoleh kondisi ideal dalam pertumbuhannya, sel melakukan pembelahan. Karena pembelahan sel merupakan persamaan eksponensial, maka fase ini disebut fase eksponensial. Pada fase perbanyakan jumlah sel meningkat pada batas tertentu sehingga memasuki fase statis (Purwoko, 2007).

Laju pertumbuhan pada fase ini sangat bergantung pada konsentrasi. Fase eksponensial merupakan fase dimana aktivitas sel akan meningkat dan fase yang paling penting dalam kehidupan mikroba. Pada fase ini terbentuk senyawa yang diinginkan seperti, etanol, asam laktat dan asam organik lainnya (Purwoko, 2007).



Pada fase ini dapat dipanen enzim-enzim (Gandjar dan Sjamsuridzal, 2006).

### **2.7.3 Fase Statis (*Stationer Phase*)**

Pada fase statis pembiakan mulai berkurang dan beberapa sel mati. Apabila laju pembiakan sama dengan laju kematian, maka secara keseluruhan jumlah sel tetap konstan. Pada fase ini terbentuk produk metabolisme yang cenderung menumpuk yang dapat menjadi racun bagi bakteri yang bersangkutan. Sel akan berhenti membelah dan terjadi keseimbangan antara sel mati dengan sel hidup (Pelezar, 2005), sehingga kurva menunjukkan garis horizontal (Dwidjoseputro, 1998). Ada beberapa alasan bakteri tidak dapat melakukan pembelahan pada fase statis, antara lain: (1) kehabisan nutrient, (2) akumulasi metabolit toksik (misalnya alkohol, asam dan basa), (3) penurunan kadar oksigen, (4) penurunan ketersediaan air. Bentuk kasus kedua dijumpai pada fase fermentasi alkohol dan asam laktat, untuk kasus ketiga dijumpai pada bakteri aerob, dan untuk kasus keempat dijumpai pada fungi atau jamur (Purwoko, 2007).

Pada fase statis sel akan melakukan adaptasi terhadap kondisi yang kurang menguntungkan. Adaptasi ini akan menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Karena biosurfaktan merupakan produk metabolit sekunder, maka dapat diproduksi pada fase ini (Schlegel, 1994). Selain itu, pada fase ini juga dihasilkan antibiotik dan antioksidan (Purwoko, 2007).

### **2.7.4 Fase Kematian (*Death Phase*)**

Pada fase ini sel menjadi mati lebih cepat daripada terbentuknya sel-sel baru. Laju kematian mengalami percepatan menjadi eksponensial tergantung pada spesiesnya, semua sel mati dalam waktu beberapa hari atau beberapa bulan. Apabila laju kematian melampaui laju pembiakan, maka jumlah sel sebenarnya menurun (Pelezar, 2005).

Penyebab utama kematian adalah autolisis sel dan penurunan energi seluler. Beberapa bakteri hanya mampu bertahan beberapa jam selama fase statis dan akhirnya masuk ke dalam fase kematian, sementara itu beberapa bakteri yang lain mampu bertahan sampai harian bahkan mingguan pada fase statis dan akhirnya masuk ke fase kematian. Beberapa bakteri bahkan mampu bertahan sampai puluhan tahun sebelum mati, yaitu dengan mengubah sel menjadi spora (Purwoko, 2007).

## **2.8 Metode Pengukuran Pertumbuhan Mikroba**

Pertumbuhan mikroorganisme dapat diukur berdasarkan konsentrasi sel (jumlah sel per satuan isi kultur) ataupun densitas sel (berat kering dari sel-sel persatuan isi kultur). Dua parameter ini tidak selalu sama karena berat kering sel rata-rata bervariasi pada tahap berlainan dalam pertumbuhan kultur. Kedua parameter tersebut juga tidak mempunyai makna yang sama dalam penelitian mengenai biokimia mikroorganisme atau gizi mikroorganisme, Densitas sel adalah kuantitas yang lebih bermakna, sedangkan dalam penelitian mengenai inaktivitas mikroorganisme, konsentrasi sel adalah kuantitas yang bermakna.

Perhitungan massa sel secara langsung atau tidak langsung sering digunakan untuk mengukur pertumbuhan sel selama proses fermentasi, dimana komposisi substrat atau bahan yang difermentasi dapat diamati dan diukur dengan teliti.

Untuk menentukan massa sel mikroba dalam suatu populasi, dilakukan dengan cara menumbuhkannya dalam suspensi homogen pada medium yang sesuai dengan konsentrasi (jumlah sel/ml) dan densitas (mg/ml), dihitung adanya peningkatan seiring waktu. Pada kultur pertumbuhan mikroba dapat ditentukan laju pertumbuhannya. Metode penentuan massa sel dapat dibedakan menjadi dua cara, yaitu secara langsung dan tidak langsung (Purwoko, 2007).

### 2.8.1 Metode Penentuan Massa Sel Secara Langsung

- Metode *Total Count*

Pada metode ini sampel diletakkan di suatu ruang hitung (seperti hemasimator) yang diketahui volumenya, maka jumlah sel dapat ditentukan secara langsung dengan bantuan mikroskop.

Jika setetes kultur dimasukkan kedalam wadah (misalnya hemasimator) yang diketahui volumenya, maka jumlah sel dapat dihitung. Akan tetapi cara tersebut memiliki keterbatasan, yaitu tidak dapat membedakan sel hidup atau mati dan tidak dapat digunakan pada jumlah sel yang sangat sedikit (kurang dari  $10^2$  sel/ml) (Purwoko, 2007).

Kelemahan lainnya adalah sulitnya menghitung sel yang berukuran sangat kecil seperti bakteri karena ketebalan hemositometer tidak dimungkinkan digunakannya lensa objektif celup minyak. Kelemahan yang lain yaitu kadang-kadang sel-sel cenderung bergerombol sehingga sukar membedakan sel-sel individu. Cara mengatasinya ialah menceraiberaikan gerombolan tersebut dengan menambahkan bahan anti gumpalan seperti dinatrium etilanadiamina tetra asetat dan tween 80% sebanyak 0,1%.

Keuntungan metode ini adalah pelaksanaannya cepat dan tidak memerlukan banyak peralatan (Purwoko, 2007).

- Metode Turbidimetrik

Untuk memeriksa biakan dengan konsentrasi sel dalam jumlah besar, maka metode cawan bukanlah pilihan yang baik karena tidak hanya memakan waktu tetapi juga memerlukan media dan peralatan dalam jumlah besar. Saat ini tersedia metode yang lebih cepat dan praktis, yaitu mengukur kekeruhan biakan dengan fotokilometer.

Secara rutin jumlah sel bakteri dapat dihitung dengan cara menghitung kekeruhan (turbiditas) kultur. Semakin keruh suatu kultur, semakin banyak jumlah sel. Prinsip dasar metode turbidimeter adalah jika cahaya mengenai sel, maka sebagian cahaya diserap dan sebagian cahaya diteruskan. Jumlah cahaya yang diserap berbanding lurus dengan jumlah sel bakteri. Ataupun sejumlah cahaya yang diteruskan berbanding terbalik dengan jumlah sel bakteri. Semakin banyak sel, semakin sedikit cahaya yang diteruskan. Metode ini memiliki kelemahan yaitu tidak dapat membedakan antara sel mati dan sel hidup (Purwoko, 2007).

- Metode Berat Kering

Metode ini relatif mudah dilakukan, yaitu kultur disaring atau disentrifugasi, kemudian residu atau bagian yang mengendap dikeringkan. Pada metode ini juga tidak dapat membedakan sel mati dan sel hidup. Akan tetapi keterbatasan ini tidak mengurangi manfaat metode ini dalam hal mengukur efisiensi fermentasi, karena pertumbuhan diukur dengan satuan berat sehingga konsumsi substrat dan produksi senyawa yang diinginkan dapat dihitung (Purwoko, 2007).

- Metode Electronic Counter

Pada pengukuran menggunakan metode ini, suspensi mikroorganisme dialirkan melalui lubang kecil (orifice) dengan bantuan aliran listrik. Elektroda yang ditempatkan pada kedua sisi orifice mengukur tekanan listrik (ditandai dengan naiknya tekanan) pada saat bakteri melalui orifice. Pada saat inilah jumlah sel dapat dihitung.

Keuntungan metode ini adalah hasil bisa diperoleh dengan lebih cepat dan akurat, serta dapat menghitung sel dengan ukuran besar. Kerugian metode ini adalah tidak bisa digunakan untuk menghitung bakteri karena adanya gangguan debit, filament dan

sebagainya, serta tidak dapat membedakan antara sel hidup dan sel mati (Purwoko, 2007).

- Metode Plating Technique

Metode ini merupakan metode perhitungan jumlah sel tampak (*visible*) dan didasarkan pada asumsi bahwa bakteri hidup akan tumbuh, membelah dan memproduksi satu koloni tunggal. Satuan perhitungan yang dipakai adalah CFU (*Colony Forming Unit*) dengan cara membuat seri pengenceran sampel dan menumbuhkan sampel pada media padat. Pengukuran dilakukan pada plat dengan jumlah koloni berkisar 25-250 atau 30-300.

Keuntungan metode ini adalah sederhana, mudah dan sensitif karena menggunakan *colony counter* dan sebagai alat hitung yang dapat digunakan untuk menghitung mikroorganisme pada sampel makanan, air dan tanah. Namun dalam metode ini diperlukan kehati-hatian dalam menentukan media tumbuh yang sesuai dan perhitungan yang kurang akurat karena satu koloni tidak berarti selalu berasal dari satu individu sel (Purwoko, 2007).

- Metode Filtrasi Membran

Pada metode ini sampel dialirkan pada suatu sistem filter membran dengan bantuan *vacum*. Bakteri yang terperangkap, selanjutnya ditumbuhkan pada media yang sesuai dan jumlah koloni dihitung.

Keuntungan metode ini adalah dapat menghitung sel hidup dan sistem perhitungannya langsung, sedangkan kerugiannya adalah tidak ekonomis (Purwoko, 2007).

### **2.8.2 Metode Penentuan Massa Sel Secara Tidak Langsung**

- Metode Viable Count

Pada metode ini kultur diencerkan sampai batas yang diinginkan. Kultur yang sudah diencerkan, kemudian ditumbuhkan kembali pada media tumbuh sehingga diperoleh satu koloni sel. Biasanya terjadi 4-12 jam. Akan tetapi cara ini memiliki keterbatasan yaitu jumlah sel terhitung biasanya lebih dari sebenarnya disebabkan kemungkinan satu koloni dapat berasal dari dua sel yang berbeda (Purwoko, 2007).

- Metode Berat Sel Kering

Misellium fungi dipisahkan dari media dan dihitung sebagai berat kotor. Selanjutnya misellium dicuci dan dikeringkan dengan alat pengering (desikator) dan ditimbang beberapa kali hingga mencapai berat yang konstan. Berat inilah yang merupakan berat sel kering (Purwoko, 2007).

- Metode Aktivitas Metabolik

Produk-produk hasil pertumbuhan sel dapat digunakan untuk memperkirakan pertumbuhan. Misalnya asam atau  $\text{CO}_2$  menunjukkan jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam media dan dihubungkan dengan pertumbuhan melalui stoikiometri (Purwoko, 2007).

### **2.9 Ekstraksi**

Ekstraksi pelarut atau disebut juga ekstraksi air merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk memisahkan komponen dan menghilangkan pengotor dari suatu campuran. Prinsip metode ini didasarkan pada kelarutan komponen dalam pelarut, sehingga membutuhkan pemilihan pelarut yang sesuai. Pelarut yang dipilih bergantung pada kemudahannya untuk

dipisahkan dari zat terlarut dan kelarutan zat yang akan diekstraksi (Vogel, 1989). Ekstraksi pelarut dilakukan dengan penambahan pelarut yang sesuai kedalam zat yang akan diekstraksi. Kemudian campuran dikocok beberapa kali di dalam corong pisah. Setelah itu didiamkan agar campuran tersebut terpisah menjadi dua lapisan, lapisan dengan berat jenis yang lebih ringan akan berada diatas. Selanjutnya lapisan yang ada dibagian bawah dapat dikeluarkan dari corong dengan cara membuka kran corong dengan hati-hati agar lapisan atas tidak ikut mengalir keluar (Khopkar, 2008). Pemilihan pelarut yang tepat untuk ekstraksi ini sangat diperlukan, agar metode ekstraksi dapat berjalan maksimal. Eter merupakan pelarut yang baik untuk senyawa organik dan memiliki titik didih rendah sehingga mudah dipisahkan dari zat terlarut.

- Ekstraksi Cair-Cair

Proses pemisahan secara ekstraksi dilakukan jika campuran yang akan dipisahkan berupa larutan homogen (cair-cair) dimana titik didih komponen yang satu dengan komponen yang lain terdapat dalam campuran hampir sama atau berdekatan. Pada proses pemisahan secara ekstraksi, fase cairan II segera terbentuk setelah sejumlah massa pelarut ditambahkan kedalam campuran (cairan I) yang akan dipisahkan. Sebelum campuran dua fase dipisahkan menjadi produk ekstrak dan produk rafinat, suatu usaha harus dilakukan dengan mempertahankan kontak antara fase cairan I dengan fase cairan II sedemikian hingga pada suhu dan tekanan tertentu campuran dua fase berada dalam kesetimbangan. Jika antara larutan pengeksrak dan yang akan diekstrak tidak saling melarutkan, maka sistem tersebut dikenal sebagai Ekstraksi Insoluble Liquid. Tetapi antara larutan pengeksrak dan yang akan diekstrak sedikit saling melarutkan disebut Ekstraksi Soluble

Liquid. Sebagai cairan pengestrak, harus memenuhi kriteria sebagai berikut:

- Daya larut terhadap zat yang akan diekstrak cukup besar.
- Sama sekali tidak melarutkan atau hanya sedikit melarutkan zat yang akan diekstrak.
- Antara pengestrak dan yang diekstrak harus mempunyai perbedaan densitas yang cukup.
- Antara pengestrak dengan yang diekstrak harus mempunyai perbedaan titik didih atau tekanan uap murni yang cukup.
- Tidak beracun.
- Tidak bereaksi baik terhadap pengestrak maupun yang diekstrak.
- Murah dan mudah didapat.

Ekstraksi cair-cair digunakan untuk senyawa yang larut dalam air dan komponen matriks larut atau tidak larut dalam air. Ekstraksi senyawa dari larutan air dilakukan dengan pelarut organik yang tidak bercampur dengan air. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan kemudahan menguapkan pelarut, polaritas pelarut, polaritas analit, serta kondisi termodinamika yang mempengaruhi sifat kimia analit.

- Ekstraksi Padat-Cair

Teknik ekstraksi padat-cair dibedakan menjadi tiga macam, yaitu:

- Metode maserasi, yaitu suatu teknik ekstraksi yang paling sederhana dengan cara perendaman bahan yang sudah halus pada temperatur kamar dengan pelarut yang sesuai agar zat-zat dapat larut secara sempurna.
- Metode sokletasi, yaitu teknik ekstraksi dengan menggunakan alat soklet. Pelarut pada “flash bottom” diuapkan hingga terus naik ke kondensator dan mengalami kondensasi, setelah sampai di kondensor dan



masuk sampel, lalu zat terlarut turun kembali ke “flash bottom”.

- Metode parlokasi, yaitu metode ekstraksi dengan cara bahan-bahan yang sudah halus diekstrak dalam pelarut yang sesuai dengan cara mengalirkan pelarut secara perlahan-lahan ke kolom yang berisi bahan.

### **2.10 Spektrofotometer Ultraviolet-Visible (UV-Vis)**

Spektrofotometer UV-Vis merupakan salah satu teknik analisis spektroskopi memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet dekat (190-380) dan sinar tampak (380-780) dengan memakai instrument spektrofotometer. Spektrofotometer UV-Vis melibatkan energi elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis, sehingga spektrofotometer UV-Vis lebih banyak dipakai untuk analisis kuantitatif daripada kualitatif.

Spektrofotometer terdiri atas spektrometer dan fotometer. Spektrometer menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang tertentu dan fotometer adalah alat pengukur intensitas cahaya yang ditransmisikan atau yang diabsorpsi.

Spektrofotometer tersusun atas sumber spektrum yang kontinyu, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan sampel atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sampel dan blanko ataupun pembanding (Khopkar, 1990).

Spektrofotometer UV-Vis dapat melakukan penentuan terhadap sampel yang berupa larutan, gas, atau uap. Komponen-komponen pokok dari spektrofotometer meliputi:

1. Sumber tenaga radiasi yang stabil, sumber yang bisa digunakan adalah lampu wolfram.
2. Monokromator untuk memperoleh sumber sinar yang monokromatis.

3. Sel absorpsi, pada pengukuran di daerah visibel menggunakan sel kuarsa karena gelas tidak tembus cahaya pada daerah ini.
4. Detektor radiasi yang dihubungkan dengan sistem meter atau pencatat. Peranan detektor penerima adalah memberikan respon terhadap cahaya pada berbagai panjang gelombang (Khopkar, 1990).

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Alat dan Bahan**

##### **3.1.1 Alat**

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, pipet volum, corong pisah, pengaduk, kaca arloji, shaker inkubator, vortex, spektrofotometer UV-Vis Genesys, neraca analitik ohaus pioneer, *centrifuge* IEC CL40R, *autoclave* High Pressure Steam Sterilizer ES 315, pH meter, freezer, *laminary air flow*.

##### **3.1.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain isolat bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Biopa 2411 yang diperoleh dari laboratorium jurusan biologi Universitas Airlangga Surabaya, media padat agar miring (nutrient agar (NA) 28 g/l), media *proteose phosphate glucose acid salt* atau PPGAS (0,02 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (Laboratorium Mikroorganisme), 0,02 M KCl (Laboratorium Mikroorganisme), 0,12 M Tris-HCl (Merck No.108382), 0,0016 M  $\text{MgSO}_4$  (Laboratorium Mikroorganisme), 0,5% [b/v] glukosa (Merck No.8337), 1% [b/v] pepton (Merck No.107228), pH 7), HCl 3N (Laboratorium Mikroorganisme), akuades, metanol, kloroform, minyak zaitun (Sariayu), dektrosa, tepung beras (Virgo), sukrosa, lisin (Merck No.105700), tirosin (Fluka No.93829),  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , oli (Honda AHM oil), dan minyak kelapa sawit (Bimoli).

## 3.2 Prosedur Penelitian

### 3.2.1 Pemeliharaan bakteri *P. aeruginosa* Biopa 2411

Pemeliharaan bakteri *P. aeruginosa* Biopa 2411 dilakukan dengan menumbuhkan dahulu isolatnya kedalam media padat (agar miring). Sebelum bakteri ditumbuhkan, maka media padat harus dibuat terlebih dulu. Media padat agar miring dibuat dengan melarutkan 0,28 g *nutrient agar* (NA) dilarutkan ke dalam 10 ml aquades, diaduk sambil dipanaskan sampai NA terlarut sempurna. Larutan NA kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi, mulut tabung ditutup dengan kapas berlemak. Tabung reaksi yang telah berisi NA selanjutnya disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah selesai seluruh tabung yang berisi NA diletakkan dalam posisi miring dan dibiarkan sampai menjadi padat. Selanjutnya isolat bakteri diambil 1 ose dan digoreskan dengan pola zig-zag pada media padat NA miring yang dilakukan dalam keadaan aseptik didalam *laminary air flow*. Tabung tersebut kemudian ditutup rapat kembali dan dibiarkan selama 24 jam.

### 3.2.2 Pengaruh Variasi Sumber Karbon Pada Pembentukan Biomassa dan Biosurfaktan

Biakan dalam media padat sebanyak 1 ose diambil dan dimasukkan ke dalam *starter* berupa 50 ml media cair PPGAS (0.02 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 0.02 M  $\text{KCl}$ , 0.12 M  $\text{Tris-HCl}$ , 0.0016 M  $\text{MgSO}_4$ , 0.5% [b/v] glukosa, 1% [b/v] pepton, diatur pH 7). Selanjutnya biakan diinkubasi selama 12 jam dengan *shaker incubator* pada 120 rpm dan 35°C. Media berisi bakteri yang telah dishaker dipindahkan secara aseptik kedalam 200 ml media cair yang sama dan diinkubasi dengan *shaker incubator* pada 120 rpm dan 35°C selama 48 jam. Penentuan pembentukan biomassa dilakukan dengan mengambil 10 ml biakan kemudian diukur kekeruhannya menggunakan metode turbidimetri dengan spektrofotometer pada

panjang gelombang 600 nm (Meita, 2013). Prosedur yang sama dilakukan untuk inokulasi bakteri ke dalam media cair lain dengan menggunakan variasi sumber karbon minyak zaitun, dekstrosa, tepung beras dan sukrosa sebagai pengganti glukosa. Masing-masing inokulat ditentukan kurva pertumbuhannya dengan prosedur yang sama seperti pada penentuan kurva pertumbuhan pada inokulum dengan sumber karbon glukosa. Penentuan kurva pertumbuhan dan produksi biosurfaktan dilakukan setiap 4 jam sekali selama 48 jam atau hingga bakteri memasuki fase kematian.

### **3.2.3 Uji Jenis Hidrokarbon Terbaik Untuk Emulsifier**

Penentuan produksi biosurfaktan dilakukan dengan metode emulsifier. Diambil 15 ml biakan dalam media cair, kemudian dilakukan pemisahan biomassa dengan disentrifugasi pada 3700 rpm selama 30 menit. Fasa air yang mengandung biosurfaktan dicampur dengan hidrokarbon yang akan diemulsikan. Setelah dilakukan pengocokan selama 2 menit dengan vortex diambil fasa air untuk ditentukan serapan emulsinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm (Johnson dkk., 1992). Untuk mengetahui jenis hidrokarbon terbaik yang akan diemulsikan oleh biosurfaktan yang dihasilkan maka digunakan tiga jenis hidrokarbon, yaitu minyak sawit, oli dan minyak diesel. Biosurfaktan yang digunakan diperoleh dari supernatant yang dipisahkan dari hasil sentrifugasi medium cair pada akhir fase eksponensial pertumbuhannya. Hidrokarbon yang memberikan emulsifier dengan nilai absorbansi tertinggi digunakan selanjutnya untuk uji emulsifier. Semakin tinggi absorbansinya maka semakin baik jenis hidrokarbon yang diemulsikan.

### **3.2.4 Pengaruh Variasi Nitrogen Pada Pembentukan Biomassa dan Biosurfaktan**

Metode yang digunakan sama halnya dengan 3.2.2 dengan variasi sumber nitrogen, yaitu lisin, tirosin dan ammonium sulfat menggantikan  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

### **3.2.5 Produksi dan Pemisahan Biosurfaktan**

Biosurfaktan diproduksi dengan melakukan inokulasi bakteri *P. aeruginosa* Biopa 2411 pada media PPGAS menggunakan volume media fermentasi sebanyak 2500 ml. Sumber karbon dan nitrogen yang digunakan sesuai dengan kondisi optimum yang diperoleh dari percobaan sebelumnya. Pemisahan dan pemurnian biosurfaktan dilakukan dengan metode Cameotra dan Singh (2008).

Media hasil fermentasi disentrifugasi dengan kecepatan 3700 rpm selama 30 menit untuk mendapatkan supernatannya. Supernatant yang diperoleh diasamkan dengan HCl 3N hingga pH 2,0-3,0 dan diinkubasi selama 12 jam pada suhu 4°C untuk menghasilkan endapan biosurfaktan. Untuk memisahkan endapan dengan filtrat dilakukan sentrifuge pada kecepatan 3700 rpm selama 30 menit. Endapan diekstraksi dengan campuran kloroform dan metanol (2:1) v/v. Pelarut diuapkan dengan cara menggunakan *rotary evaporator* kemudian residu dikeringkan. Residu yang sudah kering ditimbang untuk mendapatkan massanya. Untuk mengetahui endapan yang diperoleh merupakan biosurfaktan dilakukan uji emulsifier dengan inkubasi selama 24 jam ( $E_{24}$ ). Digunakan surfaktan sodium dodesil sulfat (SDS) standard dan ditentukan %  $E_{24}$  yang terbentuk.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Pemeliharaan bakteri *P. aeruginosa* Biopa 2411

Isolat bakteri yang sudah diperoleh harus ditumbuhkan dalam media padat yang baru. Tujuan dari menumbuhkan bakteri pada media padat yang baru adalah untuk regenerasi bakteri yang diakibatkan oleh habisnya nutrisi yang terkandung dalam media padat yang lama.

Nutrient agar digunakan sebagai media padat agar miring dalam penelitian ini. Nutrient agar atau agar nutrisi ini berfungsi sebagai sumber makanan bagi pertumbuhan bakteri. Agar nutrisi yang telah dilarutkan dalam akuades dimasukkan kedalam tabung reaksi, kemudian disterilkan dalam autoclave dengan suhu 121°C selama 15 menit. Media disterilkan agar terbebas dari kontaminan yang akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Penggunaan suhu yang tinggi inilah yang akan membunuh semua mikroorganisme (beserta spora dan hifanya), serta mikroorganisme yang bersifat termofilik juga akan mati. Setelah disterilisasi, tabung reaksi yang berisi larutan diletakkan dalam posisi miring lalu dibiarkan hingga dingin dan memadat. Tujuan dari memiringkan media ini adalah untuk memperluas bidang tumbuh bakteri.

Setelah media agar memadat, isolat bakteri *P. aeruginosa* biopa 2411 diambil satu ose dan digoreskan secara zig-zag pada permukaan media padat agar miring secara aseptis. Teknik aseptis merupakan teknik memindahkan media atau mikroorganisme yang dilakukan dalam *Laminary Air Flow*. *Laminary Air Flow* meniupkan udara steril secara terus-menerus melewati tempat kerja sehingga kondisi selama proses berlangsung dapat tetap steril.



## 4.2 Pengaruh Variasi Sumber Karbon Pada Pembentukan Biomassa *P. aeruginosa* Biopa 2411

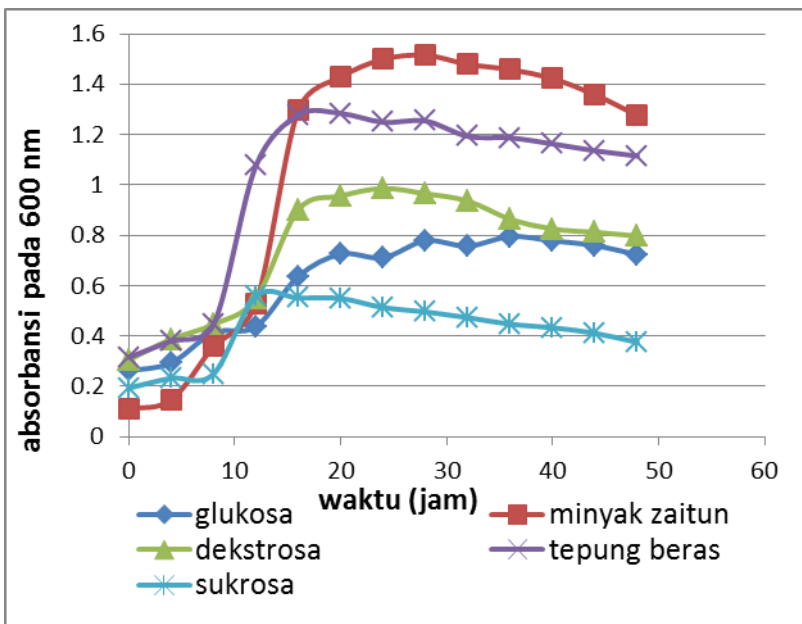
Bakteri mempunyai media yang spesifik untuk tumbuh. Dalam media tersebut bakteri akan mengalami tahap kehidupan mulai dari pertumbuhan hingga sampai pada kematian. Dalam tahap fermentasi, usia inokulum yang tepat untuk diinokulasikan pada media produksi sangat berpengaruh terhadap metabolit yang diinginkan karena mikroorganisme memiliki tahap pertumbuhan tertentu. Biosurfaktan merupakan metabolit sekunder, dimana biasanya senyawa tersebut dipanen pada fase stationer. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, perlu diketahui waktu tercapainya fase stationer untuk *P. aeruginosa* biopa 2411. Untuk mendapatkan informasi mengenai fase-fase pertumbuhan bakteri, maka ditentukan kurva pertumbuhan bakteri. Melalui kurva ini, dapat diketahui kapan fase stationer berlangsung sehingga dapat dilakukan pemanenan biosurfaktan pada waktu yang tepat.

Metode pengukuran pertumbuhan mikroba yang digunakan untuk mendapatkan kurva pertumbuhan bakteri adalah metode kekeruhan atau turbidimetri yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Makin sedikit jumlah sel dalam media pertumbuhan, makin besar intensitas cahaya yang lolos sehingga makin kecil nilai absorbansinya. Data absorbansi yang diperoleh dari pengukuran tersebut menggambarkan kepadatan sel (Optical Density/OD). Kepadatan sel merupakan pertumbuhan bakteri dalam media tumbuh. Meningkatnya kepadatan sel menandai bakteri dapat tumbuh dalam media pertumbuhan, sedangkan menurunnya kepadatan sel menandai bahwa bakteri telah mati. Blanko yang digunakan adalah akuades steril.

Gambar 4.1 merupakan kurva pertumbuhan bakteri pada variasi sumber karbon glukosa, minyak zaitun dekstrosa, tepung beras dan sukrosa. Pada gambar 4.1, fase adaptasi dari kurva

pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* biopa 2411 terlihat pada variasi sumber karbon glukosa, minyak zaitun, tepung beras dan sukrosa yang menandakan bahwa bakteri masih beradaptasi dengan lingkungannya, sedangkan pada dekstrosa tidak terlihat adanya fase adaptasi karena media pertumbuhan dengan sumber karbon ini memiliki komposisi nutrisi yang hampir sama dengan media PPGAS sehingga sel-sel bakteri sudah menyesuaikan diri.

Tahap adaptasi merupakan waktu yang dibutuhkan mikroorganisme untuk menyesuaikan diri dengan media pertumbuhannya dan belum mencapai kecepatan pembelahan maksimum.



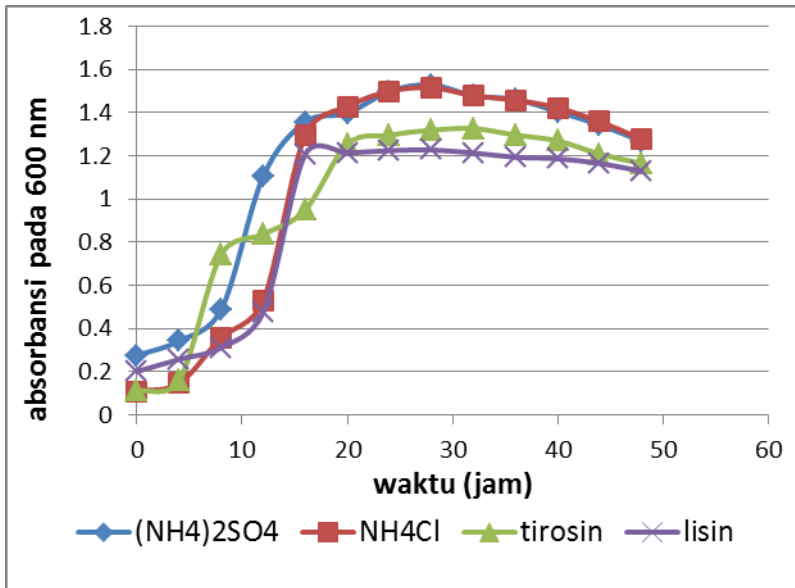
Gambar 4.1 Kurva pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* biopa 2411 dalam media pertumbuhan untuk berbagai variasi sumber karbon

Tahap eksponensial pada dekstrosa terjadi dalam interval jam ke 0-12, sedangkan untuk sumber karbon yang lain terjadi dalam interval jam ke 8-12. Pada tahap ini bakteri mengalami pembelahan maksimum dengan kecepatan yang konstan. Bakteri memasuki tahap stationer yang hampir bersamaan, yaitu pada jam ke 16, dimana pada tahap ini sel-sel bakteri sudah tidak lagi tumbuh sehingga kecepatan pertumbuhannya stabil. Bakteri sudah tidak tumbuh lagi dikarenakan keterbatasan substrat dan kepadatan populasi yang tinggi. Akhir fase stationer dicapai pada interval waktu jam ke 32-36 dan dilanjutkan dengan fase kematian. Sedangkan untuk dekstrosa tidak menunjukkan adanya fase stationer, fase ini mungkin berlangsung beberapa jam dari fase eksponensial akhir. Kemungkinan lain bakteri *P. aeruginosa* biopa 2411 tidak memiliki kemampuan lagi untuk tumbuh karena rantai karbon tertentu pada dekstrosa habis terurai, bakteri langsung menuju pada fase kematian. Tahap terakhir yaitu fase kematian merupakan tahap dimana sel-sel bakteri sudah mati dalam media biak yaitu dimulai pada interval waktu jam ke 40-48. Tahap kematian terjadi karena konsentrasi media atau substrat telah habis sehingga bakteri tidak memiliki nutrisi untuk tumbuh dan berkembang. Sesuai dengan kurva pertumbuhan bakteri pada gambar 4.1, nilai OD tertinggi diperoleh dari sumber karbon berupa minyak zaitun. Untuk menentukan apakah minyak zaitun merupakan sumber karbon terpilih dilakukan uji kualitas biosurfaktannya dengan metode uji emulsifier. Perlakuan yang sama untuk sumber karbon yang lainnya.

### **4.3 Pengaruh Variasi Sumber Nitrogen Pada Pembentukan Biomassa *P. aeruginosa* Biopa 2411**

Untuk variasi sumber nitrogen, metode pengukuran pertumbuhan mikroba yang digunakan adalah metode yang sama seperti pada variasi sumber karbon, yaitu metode kekeruhan atau

turbidimetri. Media pertumbuhan yang digunakan adalah media PPGAS dengan variasi sumber nitrogen  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , lisin, tirosin dan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Gambar 4.2 merupakan kurva pertumbuhan bakteri pada variasi sumber nitrogen yang digunakan.



Gambar 4.2 Kurva pertumbuhan bakteri *P. aeruginosa* biopa 2411 dalam media pertumbuhan untuk berbagai variasi sumber nitrogen.

Pada variasi sumber nitrogen, bakteri memasuki fase stationer pada saat yang hampir bersamaan, yaitu antara jam ke-16 hingga jam ke-20. Akhir fase stationer dicapai pada jam ke-32 dan dilanjutkan dengan fase kematian. Nilai OD yang paling tinggi ditunjukkan pada sumber nitrogen  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  pada jam ke-28.

#### 4.4 Hasil Uji Jenis Hidrokarbon Terbaik Untuk Emulsifier

Uji aktivitas emulsifikasi dilakukan dengan menggunakan tiga macam hidrokarbon yaitu minyak sawit, oli dan diesel. Tujuan penggunaan variabel hidrokarbon ini dimaksudkan untuk mengetahui jenis hidrokarbon mana yang memberikan nilai aktivitas emulsifikasi yang lebih tinggi. Tabel 4.1 berikut menunjukkan aktivitas emulsifikasi ketiga hidrokarbon uji pada media pertumbuhan PPGAS.

Hidrokarbon uji	Absorbansi pada 600 nm
Minyak kelapa sawit	2,74
Oli	2,201
Diesel	0,797

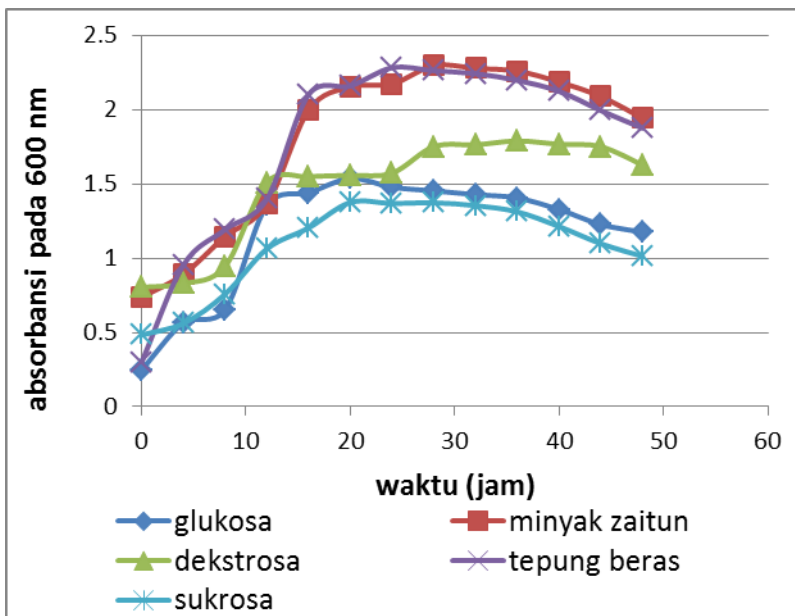
Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa aktivitas emulsifikasi terbesar adalah pada hidrokarbon minyak kelapa sawit yang ditunjukkan dengan nilai absorbansi terbesar.

Uji aktivitas biosurfaktan dilakukan dengan cara menguji aktivitas emulsifikasi karena berdasarkan penelitian-peneitian yang telah dilakukan sebelumnya menyatakan bahwa kualitas biosurfaktan semakin baik apabila semakin meningkatkan nilai emulsifikasinya (Fatimah, 2007). Pada penelitian ini digunakan minyak kelapa sawit sebagai hidrokarbon dan air sebagai pelarut media pertumbuhan sebagai larutan polarnya.

#### 4.5 Hasil Uji Kandungan Biosurfaktan Pada Variasi Sumber Karbon

Setelah diketahui bahwa minyak kelapa sawit adalah hidrokarbon terbaik untuk emulsifier, maka aktivitas emulsifikasi pada variasi sumber karbon dapat dilakukan. Berdasarkan Gambar 4.3 maka diperoleh informasi bahwa aktivitas emulsifikasi terbesar terjadi pada sumber karbon minyak zaitun. Absorbansi

tertinggi ditunjukkan dengan tingginya tingkat kekeruhan karena minyak (kelapa sawit) yang telah dipecah oleh biosurfaktan terbentuk menjadi misel dan tersebar keseluruh bagian yang kemudian misel-misel tersebut akan menyerap setiap gelombang yang dipantulkan dari alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm.



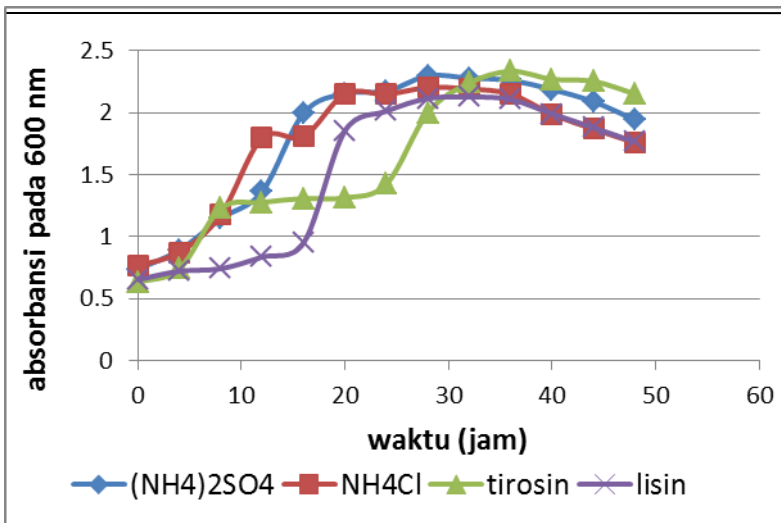
Gambar 4.3 Grafik aktivitas emulsifikasi biosurfaktan pada variasi sumber karbon

Pertumbuhan *P. aeruginosa* pada substrat minyak zaitun menyebabkan sel nya bersifat lebih hidrofob. Hidrofobitas sel ini menyebabkan sel tersebut menunjukkan aktivitas emulsifikasi lebih baik dibanding dengan substrat yang lain. Hal ini menegaskan bahwa pengaruh hidrokarbon pada komponen permukaan sel yang hidrofob dapat menyebabkan sel tersebut kehilangan integritas struktural selnya dan melepaskan biosurfaktan kedalam media

(Francy dkk.,1991). Selain itu, dilakukan pula penelitian tentang pengaruh sumber nitrogen terhadap aktivitas emulsifikasi biosurfaktan.

#### 4.6 Hasil Uji Kandungan Biosurfaktan Pada Variasi Sumber Nitrogen

Produksi biosurfaktan oleh mikroba tergantung dari jenis mikroorganismenya dan kondisi pertumbuhan seperti sumber karbon, sumber nitrogen, pH dan temperatur. Untuk menentukan pengaruh sumber nitrogen pada produksi biosurfaktan maka dilakukan uji emulsifier dengan menggunakan minyak kelapa sawit sebagai hidrokarbon.



Gambar 4.4 Grafik aktivitas emulsifikasi biosurfaktan pada variasi sumber nitrogen

Dari Gambar 4.4 berikut terlihat bahwa semua sumber nitrogen menunjukkan aktivitas emulsifikasi yang tinggi. (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan NH<sub>4</sub>Cl memiliki aktivitas emulsifikasi yang

hampir sama. Aktivitas emulsifikasi yang dihasilkan dari sumber nitrogen tirosin menunjukkan kenaikan aktivitas yang signifikan dimulai dari jam ke-28. Bila dilihat kurva pertumbuhan dan aktivitas emulsifikasi maka dipilih  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sebagai sumber nitrogen dan minyak zaitun sebagai sumber karbon karena menunjukkan kondisi yang paling optimal baik dilihat dari kurva pertumbuhan maupun aktivitas emulsifikasi.

#### **4.7 Produksi dan Pemisahan Biosurfaktan**

Produksi biosurfaktan dilakukan dalam media cair 2500 mL. Media diinkubasi dan digoyang dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 120 rpm dan suhu 35°C. Kultur diinkubasi dan digoyang selama 32 jam (sampai akhir fase stationer). Penggoyangan pada shaker akan mendistribusikan oksigen secara merata di dalam media biakan. Untuk mendapatkan biosurfaktan dilakukan pemisahan biomassa dari media biakannya sesuai dengan metode yang dikemukakan oleh Cameotra dan Singh (2008). Media biakan disentrifugasi selama 30 menit pada kecepatan 3700 rpm dan didekantasi sehingga diperoleh biomassa (sel basah) dan supernatan. Biomassa dibuang dan supernatan diasamkan dengan HCl 3 N hingga pH 2.0-3.0. Pengasaman ini bertujuan mengubah kelarutan biosurfaktan menjadi kurang larut dalam air sehingga mudah dipisahkan dari senyawa-senyawa pengotor lainnya. Pengasaman ini penting untuk dilakukan sebelum memulai proses ekstraksi untuk mendapatkan biosurfaktan yang terkandung di dalam supernatan. Supernatan kemudian disimpan selama semalam pada suhu 4°C. Fungsi dari perlakuan ini adalah untuk mengoptimalkan pengendapan biosurfaktan. Pengasaman dan inkubasi semalam pada suhu 4°C menghasilkan endapan berwarna putih dalam supernatan. Filtrat kemudian dipisahkan kembali dari endapannya dengan cara disentrifugasi pada 3700 rpm selama 30 menit. Filtrat dibuang dan

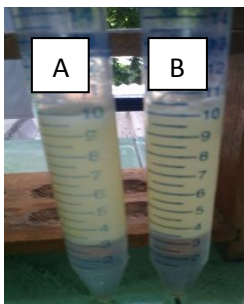


residu (endapan) diambil untuk dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan alat *freeze dryer*. Biosurfaktan kering yang telah didapatkan ditimbang massanya dan diperoleh 2,56 gram per 2500 mL (0,032 gram per liter per jam).

Biosurfaktan kering selanjutnya dimurnikan dengan cara diekstrak menggunakan pelarut kloroform-metanol sebanyak 45 mL 2:1 v/v sebagaimana juga yang dilakukan oleh Cameotra dan Singh untuk mendapatkan biosurfaktan yang murni. Berat total biosurfaktan yang diperoleh adalah 2,14 gram untuk 2500 mL media cair (0,026 gram per liter per jam).

#### 4.8 Uji Aktivitas Emulsifikasi

Untuk mengetahui endapan yang diperoleh merupakan biosurfaktan maka dilakukan uji aktivitas emulsifikasi. Uji aktivitas emulsifikasi ( $E_{24}$ ) dilakukan dengan mencampurkan 6 mL minyak kelapa sawit, 4 mL akuades dan biosurfaktan. Kemudian larutan dikocok dengan vortex selama 2 menit dan didiamkan selama 24 jam. Perbandingan yang digunakan adalah surfaktan Sodium dodesil sulfat (SDS).



Gambar 4.5 Hasil uji emulsifikasi ( $E_{24}$ ) dari (A) SDS dan (B) Biosurfaktan

$$E_{24} = \frac{\text{tinggi emulsi}}{\text{tinggi total larutan}} \times 100\%$$

Hasil uji aktivitas emulsifikasi dapat dilihat pada gambar 4.5. Nilai indeks emulsifikasi biosurfaktan yang didapat sebesar 65% sedangkan nilai indeks emulsifikasi SDS mencapai 70%.

Teremulsinya larutan sampel ini dikarenakan adanya penambahan endapan yang diuji dimana yang mengindikasikan bahwa endapan tersebut adalah biosurfaktan yang telah dihasilkan oleh bakteri *P. aeruginosa* biopa 2411.

*“Halaman ini sengaja dikosongkan”*

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian dan analisa, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Produksi biosurfaktan dapat dipengaruhi oleh variasi sumber karbon dan nitrogen.
2. Kondisi media optimum untuk produksi biosurfaktan adalah menggunakan minyak zaitun sebagai sumber karbon dan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  sebagai sumber nitrogen.
3. Hasil biosurfaktan yang diperoleh dari kondisi media optimum sebesar 0,026 gram per liter per jam.

#### **5.2 Saran**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai struktur dari biosurfaktan yang dihasilkan.

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***

## DAFTAR PUSTAKA

- Bai, G., Brusseau, M. L., Miller, R. M. (1997). Biosurfactant Enhanced Removal of Residual Hydrocarbon from Soil. *Journal of Contaminant Hydrology*, 25, 157-170.
- Banat, I. M., Franzetti, A., Gandolfi, I., Bestetti, G., Martinotti, M. G., Fracchia, L., Smyth, T. J., dan Marchant, R. (2010). Micribial Biosurfactants Production, Appllications and Future Potential. *Applied Microbiology Biotechnology*, 87, 427-444.
- Barathi, S., Vasudevan, N. (2001). Utilization of Petroleum hydrocarbons by *Pseudomonas fluorescens* Isolated from Petroleum Contaminated Soil. *Enviromental International*, 26, 413-416.
- Boulding, J. R. (1996). *EPA Enviromental Engineering Sourcebook*. Michigan: Ann Arbor Press.
- Brooker, Robert J. (2008). *Biology*. New York: Mc Graw-Hill.
- Cameotra, S. S., Singh, P. ( 2008). Bioremediation of Oil Sludge Using Crude Biosurfactants. *International Bioredetertion & Biodegradation*, 274-280.
- Cookson, J. T. (1995). *Bioremedian Engineering: Design and Application*. Toronto: McGraw-Hill.
- Dwidjoseputro. (1998). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djambatan.
- Elvers, B., Hawkins, S., Russey, W. (Eds.). (1994). *Ullmann Encyclopedia of Industrial Chemistry*, vol A25. VCH, Weinheim.

- Fatimah (2007). *Uji Produksi oleh Pseudomonas sp. Pada Substrat Yang Berbeda*. Surabaya: Jurnal FMIPA, Universitas Airlangga.
- Francy, DS., Thomas JM., Raymond, RL., Ward, CH. (1991). Emulsification of Hydrocarbons by Surface Bacteria. *J Ind Microbial*, 8, 234-246.
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W. (2006). *Mikologi: Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Ghazali, R. dan Ahmad, S. (1997). Biosurfactants-A Review. *Elaeis Journal*, 9(1), 34-54.
- Gunalan. (1993). *Penerapan Bioremediasi untuk Melenyapkan Polutn Organik dan Lingkungan*. Surabaya: Proceeding Kongres Nasional VI Perhimpunan Microbiology Indonesia.
- Haba, E., Espuny, M. J., Busquet, M., Manresa, A. (1999). Screening and Production of Rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCIB 40044 from Waste Frying Oils. The Society for Applied Microbiology. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 379-397.
- Holmberg, K. (2002). *Handbook of Applied Surface and Colloid Chemistry. Edisi pertama*. New York: John Wiley.
- Iwamoto, T., Nasu, M. (2001). Current Bioremediation Practice and Perspective. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 92 (1), 1-8.
- Johnson, V., Sigh, M., Saini, V. S., Andikari, D. K., Sista, V dan Yadav N. K. (1992). Bioemulsifier Production Using Non Aseptic Fermentation of Mixed Cultures. *Journal of Biotecnology and Bioengineering*, 44, 661-666.

- Kim, S. H., Lim, E. J., Lee, S. O., Lee, J. D dan Lee, T. H. (2000). Purification and Characterization of Biosurfactants from *Nocardia sp.* L-417. *Biotechnology Applied Biochemistry*, 31, 249-253.
- Khopkar, S. (1990). *Konsep Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Kosaric, N., Cairns, W. L., Gray, N. C. C. (1987). *Biosurfactants and Biotechnology*. USA: Newyork and Bassel, Maecell Dekker, INC.
- Kuo, T. M., Kim, H., dan Hou, C. T. (2001). Production of a Novel Coumpound, 7, 10, 12-trihydroxi-SE-octadecenoic Acid from Ricinoleic Acid by *Pseudomonas aeruginosa* PR3. *Current Microbiology*, 43, 198-203.
- Leahly, J. G dan R. C. Rita. (1990). *Microbiology Degradation of Hydrocarbon Enviromental Microbiology Review*, 54.
- Lourith, N. dan Kanlayavattanaku, M. (2009). Natural Surfactants Used in Cosmetics: Glycolipids. *International Journal of Cosmetic Science*, 31, 255-261.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. (2008). *Biology of Microorganisms Edisi kedua belas*. San Francisco: Pearson,.
- Makkar, R.S., Cameotra, S.S., dan Banat, I.M. (2011). Advances in Utilization of Renewable Substrates for Biosurfactant Production. *AMB Express*, 1, 1-19.
- Meita, (2013). *Pengaruh Temperatur pada Pembentukan Biosurfaktan Oleh Pseudomonas aeruginosa Lokal*. Surabaya: Skripsi Jurusan Kimia FMIPA, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.



- Mulliawati, Eka. (2005). *Sintesis Biosurfaktan dengan Menggunakan Minyak Kedelai sebagai Sumber Karbon Tambahan Secara Biotransformasi oleh Pseudomonas aeruginosa*. Surakarta: Skripsi, Universitas Sebelas Maret.
- Mulligan, C. N. (2006). Environmental Application for Biosurfactant. *Environmental Pollution*, 133, 183-198.
- Muthusamy, K., Gopalakrishnan, S., Ravi, T. K., dan Sivachidambaram, P. (2008). Biosurfactants: Properties, Commercial Production and Application. *Current Science*, 94, 736-747.
- Nitschkea, M., Costa, S. G. V. A. O., Contiero, J. (2011). Rhamnolipid and PHAs: Recent Reports on *Pseudomonas*-derived molecules of Increasing Industrial Interest. *Process Biochemistry*, 46, 621-630.
- Ni'matuzahroh, Surtiningsih, T., Isnaeni. (2001). *Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklasti dari Lingkungan Tercemar Minyak dalam Memproduksi Biosurfaktan : Upaya Bioremediasi Lingkungan*. Surabaya: Laporan Penelitian RUT VIII.3, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Nugraha, Setyo. (2008). *Penggunaan Biosurfaktan yang Diimobilisasikan pada Alofan Sebagai Adsorben Ion Logam Cd*. Surakarta: Skripsi, Universitas Sebelas Maret.
- Obayori, O. S. (2009). Degradation of Hydrocarbons and Biosurfactant production by *Pseudomonas sp.* Strain. *Microbiology and biotechnology*, 25, 1615-1623.
- Onwosi, C. O. dan Odibo, F. J. C. (2012). Effect of Carbon and Nitrogen Sources on Rhamnolipid Biosurfactants Production by *Pseudomonas nitroreducens* Isolated from

- Soil. *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 28, 937-942.
- Pantazaki, A. A., Dimopoulou, M. I., Simou, O. M., Pritsa, A. A. (2010). Sunflower Seed Oil and Oleic acid Utilization for The Production of Rhamnolipid by *Thermus thermophiles* HBB. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 88, 937-951.
- Pelczar, Michael. (2005). *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI Press.
- Purwoko, Tjahjadi. (2007). *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Rahman, K. S. M., Rahman, J. T., Lakshmanaperumalsamy, P., Banat, I. M. (2002). Towards Efficient Crude Oil Degradation by A Mixed Bacterial Consortium. *Bioresource Technology*, 85, 257-261.
- Rahman , R. A., dan Sadi, S. (1998). *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid II*. Jakarta: UI Press.
- Rashedi, H., E. Jamshidi, M. M. Assadi dan B. Bonakdarpour (2005). Isolation and Production of Biosurfactant from *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Iranian Southern Oil Well. *Iran. J. Chem. Chem. Eng*, 25 (1), 25-30.
- Reis, R. S., Pereira, A.G., Neves, B. C., Freire, D. M. G. (2011). Gene Regulation of Rhamnolipid Production in *Pseudomonas aeruginosa* – a review. *Bioresource Technology*, 102, 6377-6384.
- Rosa, C.F.C., Michelon, M., Burkert J.F.M., Kalil, S.J., and Burkert, C.A.F. (2010). Production of a Rhamnolipid-type Biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* LBM10

- Grown on Glycerol. *African Journal of Biotechnology*, 9, 9012-9017.
- Schlegel, Hans G. (1994). *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press, 501.
- Stohrl, W. A., Rouse, H., Fisher, B. D. (2001). *Microbiology: High Yield Microbiology and Infectious Diseases*. USA: Lippincott Williams & Wilkins.
- Stover, C.K. dkk. (2000). *Complete Genome Sequence of Pseudomonas aeruginosa PAOI, an Opportunistic Pathogen*, 406. Macmillan Magazines Ltd. Nature volume, 959-964.
- Suryatmana, P. (2006). *Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi dengan Penambahan Azobacter chroocaccum AC04 sebagai Bakteri Penghasil Biosurfaktan*. Bandung: Disertasi, Institut Teknologi Bandung.
- Thavasi, R., Jayalakshmi, S., dan Banat, I. M. (2011). Application of Biosurfactants Produced from Peanut Oil Cake by *Lactobacillus delbrueckii* in Biodegradation of Crude Oil. *Bioresources Technology*, 102, 3366-3372.
- Vatsa, P., Sanchez, L., Clement, C., Baillieul, F., dan Dorey, S. (2010). Rhamnolipid Biosurfactants as New Players in Animal and Plant Defense Against Microbes. *International Journal of Molecular Science*, 11, 5095-5108.
- Verma, S., Bhargaya, S., Pruthi, V. (2006). Oily Sludge Degradation by Bacteria from Ankleshwar, India. *Biodeterioration and Biodegradation*, 57, 207-213.
- Vogel. (1994). *Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

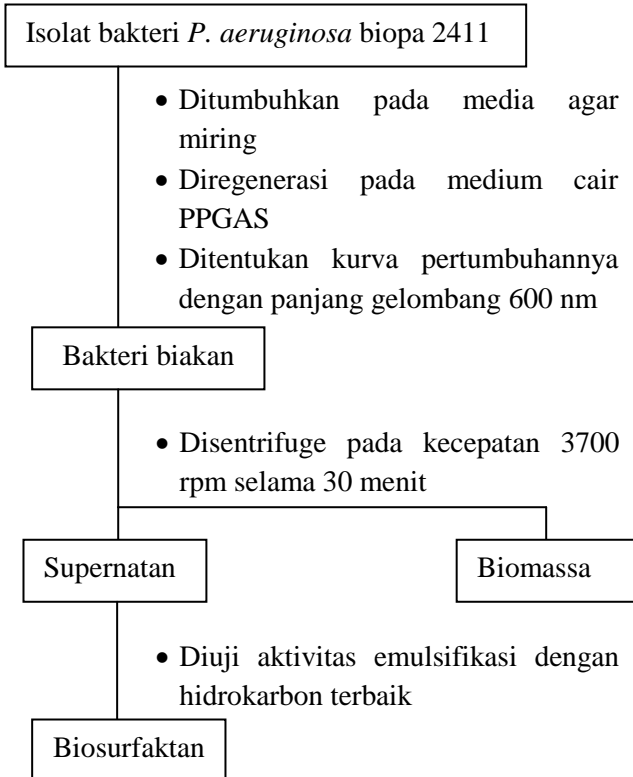
Yataghene, A. M., Abousecud, R. Maachi dan A. A. Amrane. (2008). Effect of The Carbon and Nitrogen Source on Biosurfactant Production by *Pseudomonas fluorescens* Biosurfactant Characterization. [www.aidic.it](http://www.aidic.it) diakses pada 11 Nopember 2014.

***“Halaman ini sengaja dikosongkan”***

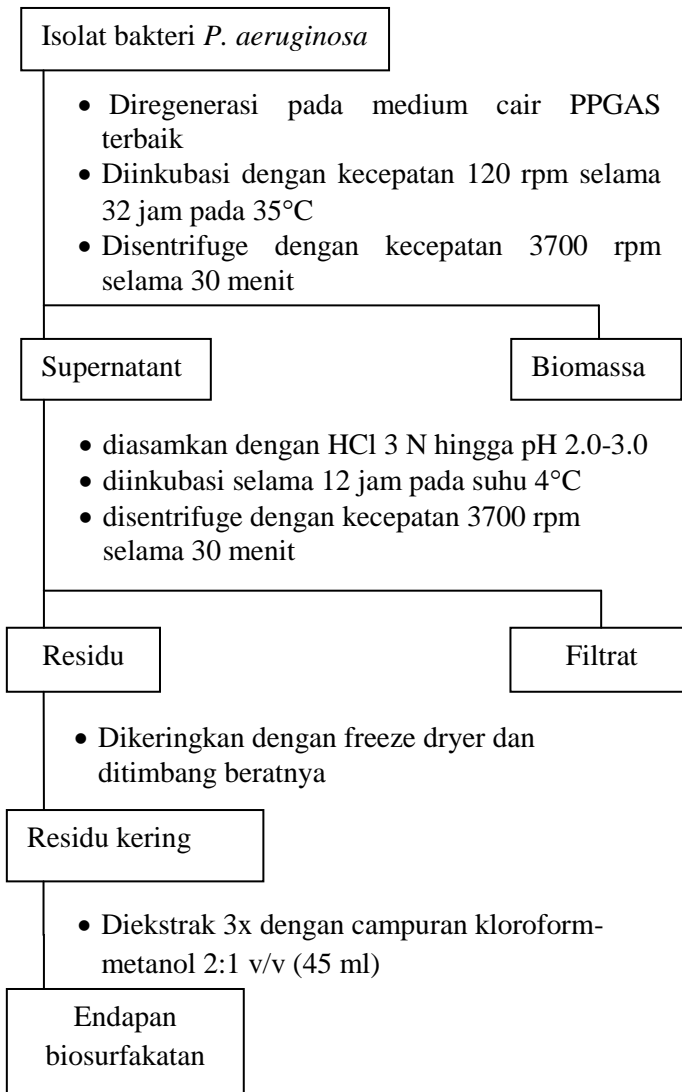
## LAMPIRAN A

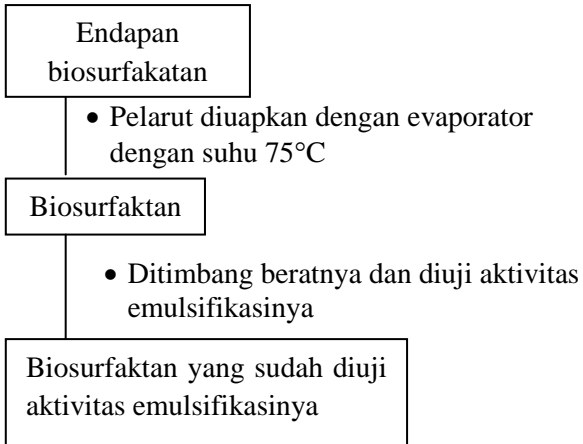
### SKEMA KERJA

#### 1. Pengaruh Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen Pada Pembentukan Biomassa dan Biosurfaktan



## 2. Pemisahan dan Produksi Biosurfaktan







## LAMPIRAN B

### Perhitungan

#### 1. Pembuatan media cair PPGAS 1250 ml untuk variasi sumber karbon

$$\bullet \text{ NH}_4\text{Cl } 0.02 \text{ M} \rightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{53,5} \times \frac{1000}{250}$$

$$\text{gram} = 0.2675 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 5 dengan volume masing-masing 37,5 mL

$$\bullet \text{ KCl } 0.02 \text{ M} \rightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{74,5} \times \frac{1000}{250 \text{ mL}}$$

$$\text{gram} = 0,3725 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 5 dengan volume masing-masing 37,5 mL

$$\bullet \text{ Tris- HCl } 0.12 \text{ M} \rightarrow 0.12 = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$0.12 = \frac{\text{gram}}{157,60} \times \frac{1000}{125 \text{ mL}}$$

$$\text{gram} = 2,364 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 5 dengan volume masing-masing 25 mL

$$\bullet \text{ MgSO}_4 \text{ } 0.0016 \text{ M} \rightarrow 0.0016 = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$0.0016 = \frac{\text{gram}}{246,5} \times \frac{1000}{250 \text{ mL}}$$

$$\text{gram} = 0.0986 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 5 dengan volume masing-masing 50 mL

- Pepton 1% (b/v) dilakukan dalam 250 ml akuades

$$\frac{1}{100} \times 1250 = 12,5 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 5 dengan volume masing-masing 50 ml

- Glukosa 0,5% (b/v) dilarutkan dalam 250 ml akuades

$$\frac{0,5}{100} \times 1250 = 6,25 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 5 variasi sumber karbon dengan volume masing-masing 50 ml

Untuk variasi sumber karbon digunakan dekstrosa, sukrosa, tepung beras dan minyak zaitun.

## 2. Pembuatan media cair PPGAS 1000 ml untuk variasi sumber nitrogen

- $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.02 M  $\rightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$   

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{53,5} \times \frac{1000}{50}$$
  
 gram = 0,0535 gram

Diambil dengan volume 37,5 mL

- KCl 0.02 M  $\rightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$   

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{74,5} \times \frac{1000}{250 \text{ mL}}$$
  
 gram = 0,3725 gram

Dibagi menjadi 4 dengan volume masing-masing 37,5 mL

- Tris- HCl 0.12 M  $\rightarrow 0.12 = \frac{\text{gram}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{mL}}$   

$$0.12 = \frac{\text{gram}}{157,60} \times \frac{1000}{125 \text{ mL}}$$
  
 gram = 2,364 gram

Dibagi menjadi 4 dengan volume masing-masing 25 mL

$$\bullet \text{ MgSO}_4 \text{ 0.0016 M} \longrightarrow 0.0016 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$0.0016 = \frac{\text{gram}}{246,5} \times \frac{1000}{250 \text{ mL}}$$

$$\text{gram} = 0.0986 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 4 dengan volume masing-masing 50 mL

$$\bullet \text{ Pepton 1\% (b/v) dilakukan dalam 250 ml akuades}$$

$$\frac{1}{100} \times 1000 = 10 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 4 dengan volume masing-masing 50 ml

$$\bullet \text{ Glukosa 0,5\% (b/v) dilarutkan dalam 250 ml akuades}$$

$$\frac{0,5}{100} \times 1000 = 5 \text{ gram}$$

Dibagi menjadi 4 dengan volume masing-masing 50 ml

Untuk variasi sumber nitrogen digunakan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , lisin dan tirosin. Berikut perhitungan masing-masing sumber nitrogen

$$\bullet \text{ (NH}_4)_2\text{SSO}_4 \text{ 0.02 M} \longrightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{132} \times \frac{1000}{50}$$

$$\text{gram} = 0,132 \text{ gram}$$

Diambil dengan volume 37,5 ml

$$\bullet \text{ Lisin 0.02 M} \longrightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{\text{mL}}$$

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{146} \times \frac{1000}{50}$$

$$\text{gram} = 0,146 \text{ gram}$$

Diambil dengan volume 37,5 ml

- Tirosin 0.02 M  $\rightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{mL}$   

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{181} \times \frac{1000}{50}$$

$$\text{gram} = 0,181 \text{ gram}$$

Diambil dengan volume 37,5 ml

### 3. Pembuatan media cair PPGAS 1250 ml untuk produksi biosurfaktan

- $\text{NH}_4\text{Cl}$  0.02 M  $\rightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{mL}$   

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{53,5} \times \frac{1000}{250}$$

$$\text{gram} = 0,2675 \text{ gram}$$

Dibagi 2 dengan volume masing-masing 125 ml

- $\text{KCl}$  0.02 M  $\rightarrow 0.02 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{mL}$   

$$0.02 = \frac{\text{gram}}{74,5} \times \frac{1000}{250}$$

$$\text{gram} = 0,3725 \text{ gram}$$

Dibagi 2 dengan volume masing-masing 125 mL

- Tris-  $\text{HCl}$  0.12 M  $\rightarrow 0.12 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{mL}$   

$$0.12 = \frac{\text{gram}}{157,60} \times \frac{1000}{250}$$

$$\text{gram} = 4,728 \text{ gram}$$

- $\text{MgSO}_4$  0.0016 M  $\rightarrow 0.0016 = \frac{\text{gram}}{Mr} \times \frac{1000}{mL}$   

$$0.0016 = \frac{\text{gram}}{246,5} \times \frac{1000}{250}$$

gram = 0.0986 gram

- Pepton 1% (b/v) dilakukan dalam 250 ml akuades

$$\frac{1}{100} \times 2500 = 25 \text{ gram}$$

- Glukosa 0,5% (b/v) dilarutkan dalam 250 ml akuades

$$\frac{0,5}{100} \times 2500 = 12,5 \text{ gram}$$

## RIWAYAT PENULIS



Penulis memiliki nama lengkap Sanindri Rahayu, lahir di Tulungagung pada tanggal 4 Mei 1992 merupakan anak kedua dari dua bersaudara. Penulis telah menempuh pendidikan formal di TK Kromasan Pulosari (1996), SDN Bago 1 Tulungagung (1998), SMPN 1 Tulungagung (2004), dan SMAN 1 Kauman (2007). Pada tahun 2010, penulis diterima di Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya melalui jalur SNM-PTN dan terdaftar dengan NRP 1410 100 062. Ketertarikan penulis dalam bidang kimia mikroorganisme mengantarkan penulis untuk memilih Laboratorium Kimia Mikroorganisme sebagai tempat untuk menyelesaikan tugas akhir dengan topik produksi senyawa biosurfaktan dibawah bimbingan Drs. Refdinal Nawfa MS. Penulis dapat dihubungi di [sasa.sanindri@gmail.com](mailto:sasa.sanindri@gmail.com).