

AKTIVITAS BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI LUMPUR MINYAK MFS3

Biosurfactant activity from Oil Sludge Bacteria MFS3

Fifi Afiati, Martha Sari ,Wien Kusharyoto

Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI

Cibinong Science Center, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong-Bogor 16911 Telp. 021-8754587, Fax. 021-8754588

E-mail: afiati_btk@yahoo.com

Abstract-The biosurfactant activity are surface active compound produced by microorganism, these molecules reduce surface tension between aqueous solutions that diverse of polarity. Endophytic bacteria MFS3, isolated from sludge oil resources presented positive biosurfactant test. The aim of this study is to screen of biosurfactant activity from MFS3 endophytic bacteria, by using Parafilm hydrophobic M test and surface tension determination by using Du-Nouy-ring Tensiometer method. The stability of surface tension curve in culture medium was stable for 8 days at 30°C.

Keywords: MFS3 bacteria, microscopy, surface tension, and parafilm M test

PENDAHULUAN

Masalah ekologi lingkungan penyebab polusi oleh hidrokarbon minyak bumi di lingkungan daratan dan perairan saat ini merupakan fenomena umum. Salah satu cara yang tepat untuk menekan limbah terkontaminasi senyawa hidrokarbon khususnya di perairan adalah dengan tata kelola limbah secara baik dan memanfaatkan biodegradasi oleh konsorsium mikroba untuk tujuan fungsional. Teknik biodegradasi cemaran minyak umumnya dapat dimaksimalkan dengan peningkatan solubilitas dan emulsifitas perairan oleh kerja mikroorganisme melalui sekresi zat aktifnya, dimana sebelum ini telah didominasi surfaktan sintesis kimiawi sebagai media pembersih. Namun penggunaan surfaktan sintesis kimia berupa detergen yang terakumulasi, menimbulkan kerusakan biota di daerah perairan (Thavasi *et al* 2011) serta kerusakan lingkungan di masa yang akan datang (Maneerat dan Phetrong, 2007).

Upaya lain yang dapat dilakukan dalam menanggulangi masalah pencemaran lingkungan adalah memanfaatkan bakteri yang mempunyai aktivitas biosurfaktan (BS). Karanth *et al.* (2005) memaparkan bahwa sebagian besar mikroorganisme berpotensi menghasilkan kandungan aktif permukaan dengan sifat-sifat kimia dan

ukuran molekul yang bervariasi, tergantung pada lingkungan dan nutrisi dimana mikroorganisme tersebut hidup. Biosurfaktan merupakan senyawa ekstraseluler yang terdapat dalam permukaan sel mikroorganisme dengan struktur beragam (Maneerat dan Phetrong 2007) yang dapat diproduksi oleh berbagai mikroorganisme (Franzetti *et al* 2010). Keaneka ragaman BS diharapkan dapat meningkatkan degradasi mikroba polutan, sehingga memungkinkan untuk diaplikasikan diberbagai bidang seperti pertanian, kesehatan masyarakat, makanan, pemanfaatan limbah dan pengendalian pencemaran lingkungan (Karanth *et al* 2005).

Penelitian ini difokuskan untuk menguji aktivitas bakteri endofit MFS3 sebagai produsen senyawa biosurfaktan dengan pendekatan teknik hidrofobik *Parafilm M test* dan determinasi tegangan permukaan. Produksi senyawa aktif biosurfaktan menggunakan media biakan *mineral salt solution* (MSS) selama 10 hari waktu kultivasi di suhu ruang. Morfologi dan warna koloni dari kultur segar terpantau , bentuk koloni terdokumentasikan menggunakan instrumenmikroskopis.



METODE PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian menggunakan desain riset analisis laboratorium yang bertujuan untuk mengkaji potensi aktivitas bakteri MFS3 sebagai bakteri produsen senyawa biosurfaktan hasil isolasi dari lumpur minyak. Menurut Bento *et al* (2005) metode skrining koloni bakteri penghasil biosurfaktan dapat dilakukan untuk pengukuran aktivitas penurunan tegangan permukaan.

Alat dan Bahan

Alat yang diperlukan dalam penelitian adalah alat-alat gelas, inkubator, *shaker*, para film, DuNouy-ring Tensiometer, spektrometer dan *laminar air flow*. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kultur bakteri MFS3 yang berhasil diisolasi dari limbah lumpur minyak, media *nutrient agar* (NA), *nutrient cair* (NB), *mineral salt solution* (MSS) dan minyak.

Prosedur Penelitian

Uji hidrofobik *Parafilm M test*

Kultur bakteri dilakukan dengan menstimulasi substrat pada larutan MSS steril, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C. Setelah masa akhir inkubasi, dilakukan pemanenan suspensi dengan cara sentrifugasi selama 20 menit, kecepatan 6000 rpm. Suspensi bakteri bebas sel ditempatkan pada permukaan parafilm yang sudah ditetesi minyak. Hasil positif menunjukkan bahwa tetesan suspensi yang mengandung BS akan lebih menyebar disekitar permukaan hidrofobik, sedangkan tetesan suspensi yang tidak mengandung BS akan tetap stabil (Youssef *et al* 2004).

Uji Tegangan Permukaan dan Aktivitas Biomassa

Pengujian tegangan permukaan dengan menggunakan instrumen DuNouy-ring Tensiometer yang dilengkapi 1.9 cm cincin platinum (Rodrigues *et al* 2006). Inokulum ditempatkan secara aseptik dalam

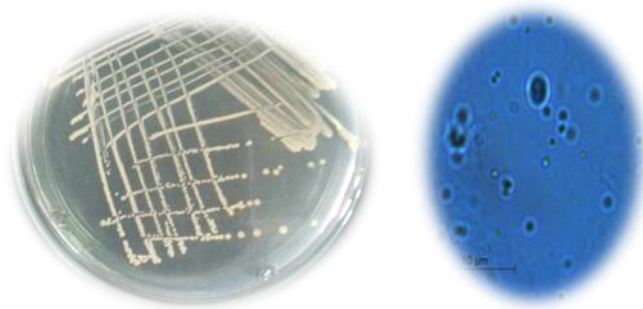
tabung sentrifuse, setelah sampel dipanen selama 10 hari dengan bantuan alat pengocok (*shaker*) kecepatan 150 rpm. Inokulum selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 20 menit. Supernatan hasil koleksi ditempatkan pada botol kaca dan siap dianalisis. Untuk meningkatkan akuratan hasil analisis, pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali pada suhu ruang. Aktivitas biomassa guna melihat morfologi sel terpantau dalam uji optik pertumbuhan sel menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 600 nm dan bentuk koloni didokumentasi secara mikroskopi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

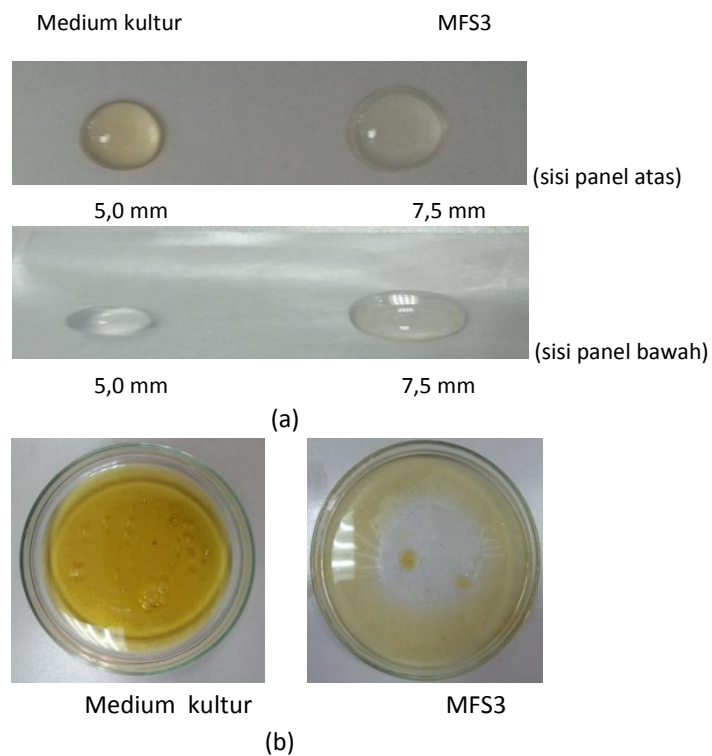
Uji hidrofobik *Parafilm M test*

Sampel dari lumpur minyak yang ditumbuhkan dalam media cair dengan teknik pengenceran kemudian disebarkan pada media padat teridentifikasi sebagai bakteri endofit MFS3 dengan bentuk morfologi bulat dengan warna cream kekuningan ketika diamati secara mikroskopi (Gambar 1). Aktivitas ekstraselular biosurfaktan dari bakteri MFS3 ketika ditempatkan pada permukaan *Parafilm M test* dan lapisan hidrofobik yang terukur pada suhu ruang tersaji pada Gambar 2. Bakteri MFS3 dalam larutan hidrofobik menunjukkan aktivitas biodegradasi terhadap senyawa minyak dengan membentuk zona bening, sehingga bakteri ini terindikasi sebagai bakteri penghasil BS. Menurut Thavasi *et al* (2011), BS mempunyai kemampuan mengemulsi minyak meskipun pada konsentrasi yang sangat rendah (Reza *et al* 2009). Namun demikian, pengujian menggunakan *Parafilm M test* adalah pengujian awal yang memiliki keterbatasan, dimana bila konsentrasi BS di atas 0.1 g/l akan menyebabkan kondisi drop tidak stabil, namun peningkatan konsentrasi BS akan menyebabkan penurunan sampai 1mN/m (Pereira *et al* 2013).





Gambar 1. Tampilan bakteri MFS3 (a) morfologi koloni dalam petri (b) bentuk koloni dalam visual mikroskopi (perbesaran 400x)



Gambar 2. Efek crude biosurfaktan bakteri MFS3 pada permukaan parafilm M test (a) dan hidrofobik (b) pada suhu ruang. Medium kultur segar digunakan sebagai kontrol

Uji Tegangan Permukaan dan Aktivitas Biomassa

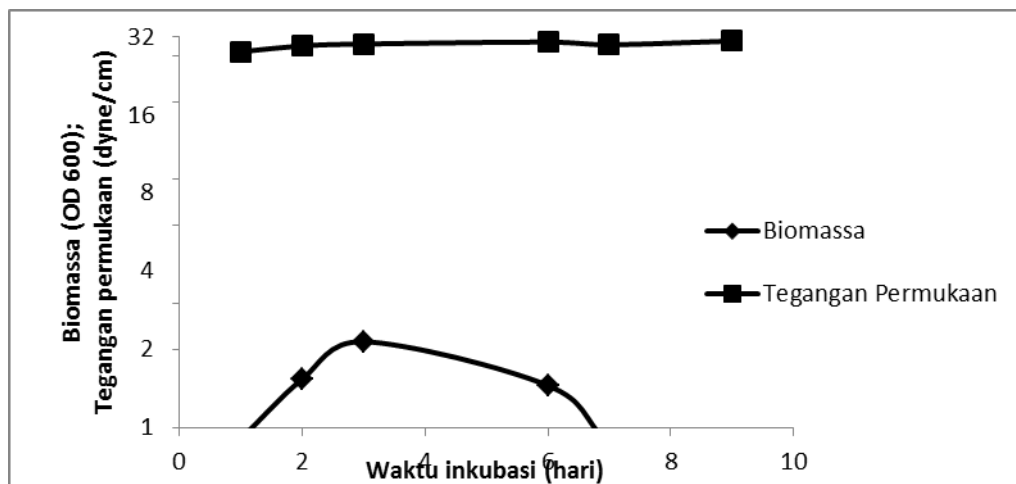
Pengukuran tegangan permukaan adalah jenis pengukuran umum yang biasa dilakukan untuk melihat aktivitas surfaktan suatu zat. Pengukuran menggunakan tensiometer dengan menempatkan cincin DuNuoy pada sampel cairan, kemudian mengatur tegangan sampai cincin tersebut terlepas secara spontan. Pada Gambar 3 terlihat hasil

pengukuran tegangan permukaan oleh aktivitas bakteri MFS3 yang relatif stabil pada kisaran antara 28 -30.8 dyne/cm selama waktu inkubasi, nilai ini berada di bawah tegangan permukaan air sebagai kontrol, yaitu sebesar 70 dyne/cm (Bush 2005). Menurut Bush *et al*, 2004 menyatakan bahwa tegangan permukaan adalah energi yang hilang per satuan luas permukaan dimana pada keadaan diam, permukaan zat

cair akan membuat gaya tarik ke segala arah, kecuali ke atas, sehingga menyebabkan munculnya tegangan permukaan.

Sementara itu, pantauan terhadap aktivitas biomassa selama 10 hari waktu inkubasi menunjukkan hasil peningkatan jumlah sel dari hari ke hari, yaitu fase puncak pada hari ke-3 hingga ke-5

kemudian menurun pada hari ke-6 secara drastis. Hasil ini sejalan dengan penelitian Thavasi *et al* (2011) yang menunjukkan pertumbuhan sel maksimum terjadi pada jam ke-120 masa inkubasi. Kenaikan jumlah sel bakteri dibarengi dengan kestabilan kurva tegangan permukaan yang dihasilkan oleh sekresi bakteri MSF3.



Gambar 3. Aktivitas Biomassa dan Tegangan Permukaan Bakteri MFS3 yang Diinkubasi selama 10 hari

KESIMPULAN

Bakteri lumpur minyak MFS3 mempunyai aktivitas biosurfaktan melalui pengujian *Parafilm M test* dan analisis tegangan permukaan. Diperlukan penelitian lanjutan guna mengkonfirmasi besaran konsentrasi biosurfaktan yang efektif dalam mendegradasi polutan

DAFTAR PUSTAKA

- Bento, F.M., de Oliveira Camargo, F.A., Okeke, B.C. and Frankenberger Jr, W.T. 2005. Diversity of biosurfactant producing microorganisms isolated from soils contaminated with diesel oil. *Microbiol. Res.*, 160 : 249-255.
- Bush JWM. 2014. Surface tension module. Dept Math.MIT. <http://web.mit.edu/1.63/www/lec-notes/surfacetension/lecture1.pdf>. 17 Mei 2014
- Franzetti, A., Tamburini, E., Banat, I.M., 2010. Application of biological surface active compounds in remediation technologies.

In: Sen, R. (Ed.), *Biosurfactants: Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 672. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 121–134.

Karant NGK, PG Deo, NK Veenanadig. 2005. Microbial production of biosurfactants and their importance. <http://www.ias.ac.in/currsci/jul10/articles19.htm>.

Maneerat S dan K Phetrong. 2007. Isolation of biosurfactant-producing marine bacteria and characteristics of selected biosurfactant. *Songklanakarin J Sci Technol* 29(3):781-791

Olivera, N.L., Commendatore, M.G., Delgado, O. and Esteves, J.L. 2003. Microbial characterization and hydrocarbon biodegradation potential of natural bilge waste microflora. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 30 : 542-548

Pereira JFB, EJ Gudina, R Costa, R Vitorino, JA Teixeira, JAP Coutinho, LR Rodrigues. 2013. Optimization and characterization of biosurfactant production by *Bacillus subtilis* towards microbial enhanced oil recovery application. *Fuel*:259-268



- Raza, Z.A., Khalid, Z.M., Banat, I.M., 2009. Characterization of rhamnolipids produced by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant strain grown on waste oils. *J. Environ. Sci. Health Part A*. 44, 1367–1373
- Rodrigues LR, JA Teixeira dan R Olivera. 2006. Low cost fermentative medium for biosurfactant production by probiotic bacteria. *Biochem Engin J* 32:135-142
- Thavasi R, S. Jayalakshmi dan IM. Banat. 2011. Application of biosurfactant produced from peanut oil cake by *Lactobacillus delbrueckii* in biodegradation of crude oil. *Biores Tech* 102:3366-3372
- Youssef, N.H., Dunacn, K.E., Nagle, D.P., Savage, K.N., Knapp, R.M. and McInerney. M.J. 2004. Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganism. *J. Microbiol. Meth.*, 56 : 339-347.

TANYA JAWAB

Konsorsius bakterinya apa saja? Apakah memiliki perbedaan peran atau sama saja?

Jawab:Penelitian ini merupakan penelitian awal, hasil isolasi lumpur minyak terdapat beberapa jenis mikroba, namun untuk penelitian ini dipilih MFS3, karena melalui pengujian sederhana menunjukkan aktivitas biosurfaktan yang positif.

