

**ISOLASI DAN SELEKSI BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN DARI SAMPEL LUMPUR MINYAK,
KALIMANTAN TIMUR**

***Isolation and Selection of Biosurfactant Producing Bacteria Isolated from Oil Sludge
in East Kalimantan***

Martha Sari, Fifi Afiati, Wien Kusharyoto

Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI, Cibinong
Cibinong Science Center, Jl. Raya Bogor Km. 46 Cibinong-Bogor 16911
Telp. 021-8754587, Fax. 021-8754588,
*e-mail: martha.biotek@gmail.com

Abstract- A total of six bacteria isolated from waste of oil sludge in the area of East Kalimantan were examined to confirm the ability in biosurfactant activity. The active compounds from each bacteria were subjected to screening test of biosurfactant by using canola oil as substrate in fermentation system. The present study aims to evaluate the initial potency of biosurfactant producing bacteria from sludge oil in East Kalimantan. All of the isolates were confirmed as producers of biosurfactants with diverse of emulsification activity. Strain SMF4 showed the highest emulsification activity and oil displacement test within 9 days of cultivation. The screening results revealed that the six strains of sludge oil bacteria gave good values in emulsification and oil displacement activity.

Keywords: oil sludge, six bacteria, emulsification, and biosurfactant

PENDAHULUAN

Pemanfaatan senyawa biosurfaktan telah banyak dilaporkan di berbagai bidang, antara lain bidang kesehatan, obat-obatan, kosmetik, kertas, kimia, maupun pangan. Biosurfaktan adalah kandungan aktif penurun tegangan permukaan dan pembentuk emulsi dari dua zat berbeda polaritas yang dihasilkan oleh eksresi mikroba. Senyawa biosurfaktan sangat variatif serta memiliki struktur kimia kompleks, seperti: lipopeptida, kombinasi protein-polisakarida, fosfolipid, asam lemak, dan lipid netral (Singh *et al*, 2007). Jika dibandingkan surfaktan sintesis kimiawi, biosurfaktan memiliki banyak kelebihan, antara lain mudah terdegradasi oleh alam, rendah toksisitas, dan efektif dalam lingkungan pH dan suhu ekstrim sehingga mudah diaplikasikan (Mukherjee *et al*, 2006). Produksi senyawa surfaktan oleh aktivitas mikroba umumnya menggunakan strain khamir, bakteri maupun fungi yang telah diisolasi. Strain khamir dan bakteri merupakan mikroba utama penghasil biosurfaktan. Meskipun ada jenis fungi dari

golongan spesies *trichoderma* dikenal sebagai penghasil *crude* surfaktan mikrobial, namun faktor patogenik merupakan alasan mikroorganisme ini diaplikasikan (Banat *et al*, 2000).

Penelitian ini memanfaatkan beberapa strain bakteri lumpur minyak hasil isolasi di wilayah Kalimantan Timur sebagai mikroba penghasil biosurfaktan. Diketahui bahwa eksplorasi hasil tambang minyak menyisakan material-material baru yang tidak sepenuhnya dimanfaatkan secara baik, salah satunya lumpur minyak. Fokus penelitian ini adalah mengevaluasi potensi awal bakteri penghasil senyawa aktif biosurfaktan yang diisolasi dari limbah lumpur minyak, Kalimantan Timur. Produksi senyawa biosurfaktan oleh aktivitas bakteri dilakukan dengan sistem pengocokan terendam, pada suhu ruang, menggunakan minyak canola sebagai substrat.

METODE PENELITIAN

Teknik Isolasi dan Produksi

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri hasil isolasi dari



lumpur minyak di wilayah Kalimantan Timur. Sampel lumpur disebar dalam media selektif mengandung minyak dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1-3 hari. Setelah inkubasi, sejumlah mikroba keluar kemudian diseleksi dan dimurnikan dengan dua kali *streaking* menggunakan teknik pengenceran berseri. Koloni hasil isolasi diproduksi dalam media kultur dengan komposisi sebagai berikut:

Garam-Mineral	Komposisi
NaNO ₃	15 g/L
KH ₂ PO ₄	3,4 g/L
K ₂ HPO ₄	4,4 g/L
MgSO ₄	0,5 g/L
NaCl	1,1 g/L
Yeast ekstrak	2,0 g/L
Nutrien broth	2,0 g/L

Dalam pembiakan kultur bakteri menggunakan enam isolat uji, diantaranya : MFS1; MFS2; MFS3; MFS4; MFS5 dan MFP1. Kultur produksi disiapkan dengan menginokulasi 1 ml biakan benih berisi inokulum $10^3 - 10^5$ sel/ml ke dalam 25 ml medium produksi garam-mineral steril lalu diinduksikan sebanyak 1 ml substrat minyak canola. Proses inkubasi bekerja dengan sistem pengocokan 180 rpm, suhu 30°C selama 9 hari. Pemanenan kultur (*crude* biosurfaktan) dilakukan dengan sentrifugasi pada kecepatan 600 rpm selama 20 menit. *Crude* biosurfaktan dari masing-masing bakteri uji diukur pH-nya setelah

inkubasi berakhir. Penentuan bobot kering sel dilakukan dengan pemanasan sel dalam oven bersuhu 80°C lalu ditimbang. Selanjutnya *crude* biosurfaktan dicuci dengan air destilata dan diatur pH masing-masing isolat hingga tercapai pH 2,0. Setelah pH tercapai, *crude* biosurfaktan didinginkan dalam lemari pendingin agar membentuk endapan. Endapan *crude* biosurfaktan dipanendani diuji potensi daya hambat sebaran minyak serta aktivitas emulsifikasinya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemilihan beberapa bakteri uji dengan cara mengisolasi sendiri sampel lumpur minyak dari wilayah pengeboran di Kalimantan Timur. Sampel lumpur diperiksa kandungan mikroba yang masih bertahan hidup dalam substrat minyak canola. Sebanyak 6 isolat bakteri berhasil keluar dari media substrat dengan warna koloni dan morfologi berbeda-beda. Proses seleksi bakteri penghasil senyawa biosurfaktan dilakukan dengan pengenceran berseri dalam larutan substrat (Manerat *et al*, 2007). Jumlah koloni bakteri yang keluar menunjukkan respon sel yang positif dalam media tumbuhnya. Keseluruhan sel menunjukkan ketahanan berbeda ketika berdeferensiasi dalam substrat minyak canola. Bakteri MFS4 memberikan respon pertumbuhan sel sangat baik di setiap tahapan pengenceran (Tabel 1).

Tabel 1. Perhitungan jumlah koloni pada sampel minyak sel/mL

Sample	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
MFS1	37 x 10 ¹	13 x 10 ²	9 x 10 ³	3 x 10 ⁴
MFS2	29 x 10 ¹	32 x 10 ²	11 x 10 ³	1 x 10 ⁴
MFS3	42 x 10 ¹	24 x 10 ²	8 x 10 ³	3 x 10 ⁴
MFS4	56 x 10 ¹	37 x 10 ²	9 x 10 ³	7 x 10 ⁴



MFS5	29 x10 ¹	33 x10 ²	1 x10 ³	2x10 ⁴
MFP1	48 x10 ¹	21 x10 ²	6 x10 ³	5x10 ⁴

Seluruh koloni bakteri tunggal-selektif yang berhasil diisolasi, digunakan dalam produksi senyawa biosurfaktan selama 9 hari kultivasi. Sebanyak 25 ml produk hasil fermentasi diperiksa kandungan selnya, pH akhir, dan uji aktivitas senyawa aktif (Tabel 2). Deteksi bakteri potensial penghasil biosurfaktan ditunjukkan oleh isolat MFS4 dengan menampilkan area zona bening tertinggi sebesar 1,20 cm. Strain MFP1, MFS1, MFS2, MFS3, MFS5 selanjutnya berturut-turut sebagai pengurai minyak yang baik oleh aktivitas hambatnya. Metode sebaran minyak merupakan metode singkat dan cukup sensitif dalam memprediksi adanya kandungan zat aktif biosurfaktan (Morikawa *et al*, 2000). Munculnya hambatan senyawa hidrokarbon membentuk zona bening disekitar larutan diketahui sebagai respon positif kerja

metabolit sekunder selyang diproduksi. Menurut Techaoei *et al*, 2007 menyatakan bahwa metabolit sekunder strain bakteri SCMU 106 menunjukkan aktifitas biosurfaktan yang tinggi dengan area sebaran minyak sebesar 4,5 cm setelah 4 hari waktu kultivasi. Penelitian yang sama dilakukan oleh Pornsunthorntawee *et al*, 2008 menyatakan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* PT2 menampilkan diameter zona bening cukup tinggi dan berkorelasi positif terhadap tingginya aktifitas tegangan permukaan.

Pengamatan pH larutan setelah akhir masa inkubasi relatif konstantan terhitung berkisar antara pH 6,55 – 6,93. Tingginya bobot sel yang terukur berkorelasi positif terhadap perolehan jumlah metabolit selterstimulasi substrat minyak canola.

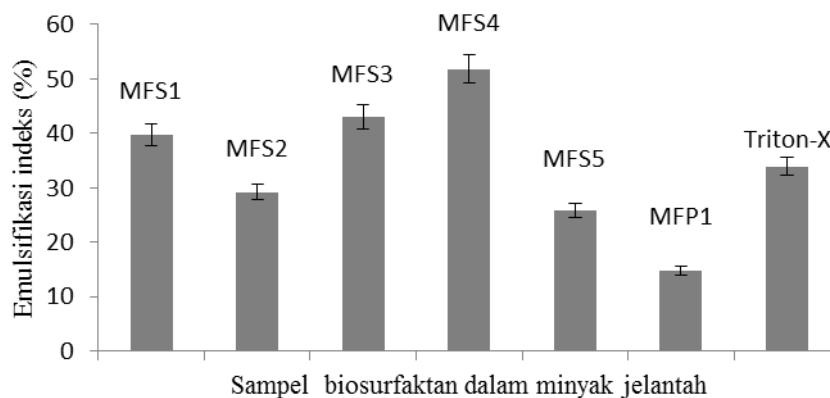
Tabel 2. Produksi biosurfaktan setelah 9 hari pasca kultivasi

Sampel	Vol medium (mL)	Bobot sel kering kering (g. l ⁻¹)	pH akhir inkubasi	Zona bening sebaran minyak
MFS1	25 ml	7 ± 1,0	6, 63	1,05 cm
MFS2	25 ml	9 ± 2,0	6, 93	0,90 cm
MFS3	25 ml	11 ± 2,0	6, 85	0,80 cm
MFS4	25 ml	27 ± 1,0	6, 86	1,20 cm
MFS5	25 ml	21 ± 2,0	6, 55	0,50 cm
MFP1	25 ml	11 ± 1,0	6, 95	1,10 cm

Pengujian aktifitas emulsi pada masing-masing sampel direaksikan dengan mencampurkan minyak jelantah ke dalam ekstrak kasar biosurfaktan lalu disandingkan dengan triton X sebagai surfaktan komersil.

Kisaran aktifitas emulsi tiap sampel beragam, besaran nilai antara 14,80 % hingga 51,8%, tersaji lengkap pada Gambar 1.





Gambar 1. Perbandingan aktifitas emulsifikasi bakteri terisolasi dan disandingkan dengan surfaktan komersil, Triton X

Pada Gambar 1 terlihat bahwa strain bakteri potensial penghasil bioemulsifikasi paling tinggi adalah strain bakteri MFS4. Strain MFS4 lengkap mengemulsi larutan hidrofobik dibanding strain lain termasuk Triton X (surfaktan sintesis kimiawi). Aktivitas emulsifikasi terdefinisi sebagai tingginya lapisan emulsi dari hasil pencampuran senyawa biosurfaktan dengan senyawa hidrokarbon, kemudian dibandingkan dengan tinggi larutan total lalu diekspresi dalam bentuk persen. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Batista *et al* (2006) menyatakan bahwa sekresi senyawa aktif biosurfaktan dari kultur bakteri terdefinisi oleh adanya kemunculan zat emulsifikasi dalam larutan surfaktan.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa seluruh strain bakteri yang diisolasi dari lumpur minyak di wilayah Kalimantan Timur adalah strain lokal potensial dengan aktifitas bioemulsifikasi (biosurfaktan). Tingginya aktivitas biosurfaktan pada strain bakteri MFS4 sangat kompetitif dibanding dengan surfaktan sintesis kimiawi (Triton X). Perlu adanya identifikasi lanjutan guna mengkonfirmasi dan mengoptimalkan senyawa aktif biosurfaktan. Konfirmasi terhadap filogenetik bakteri perlu dilakukan untuk mengkaji sifat dan karakteristik khusus strain secara morfologi maupun molekular.

KESIMPULAN

Sampel lumpur minyak dari wilayah Kalimantan Timur adalah sampel limbah yang masih bermanfaat untuk diisolasi sebagai sumber mikroba penghasil senyawa biosurfaktan. Dengan stimulasi substrat yang tepat, sebanyak 6 strain bakteri menampilkan aktivitas potensial produsen biosurfaktan dengan konsentrasi beragam. Strain bakteri MFS4 memperlihatkan aktifitas sel dan bioemulsifikasi lebih kompetitif dibanding strain lainnya termasuk surfaktan sintesis kimiawi.

DAFTAR PUSTAKA

- Banat IM, Makkar RS, and Cameotra SS, 2000. *Potential Commercial applications of microbial surfactants*, vol. 53, *Microbiol Biotechnol.* 495-508.
- Maneerat S and Phetrong K. 2007. Isolation of biosurfactant-producing marine bacteria and characteristics of selected biosurfactant. *Songklanakarin J Sci Technol.* vol 3:781-791
- Mukherjee S, Das P, Sen R. 2006. A review Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends Biotechnol.* vol 24: 509-515.
- Morikawa M, Ito M, Imanaka. 2000. Isolation of new surfactin producer *Bacillus pumillus* and cloning of the regulator gene, *psf-1*. *J Ferment Bioeng.* vol 74: 255-261.

- Pornsunthorntawee O, Arttaweeporn N, Paisanjit S, Somboonthanate P, Abe M, Rujiravanit R, Chavadej S. 2008. Isolation and comparison of biosurfactants produced by *Bacillus subtilis* PT2 and *Pseudomonas aeruginosa* SP4 for microbial surfactant enhanced oil recovery. *Biochemical Engineering Journal*. vol 42: 172-179.
- Singh A, Van Hamme JD, Ward OP. 2007. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. *Application aspects*. *Biotech Adv*. vol 25: 99-121.
- Techaoei S, Leelapornpisid P, Santiarwarn D, Lumyong S. 2007. Preliminary screening of biosurfactant producing microorganism isolated from hot spring and garage in Northern Thailand. *J Sci Tech*. vol 7: 39-43.

TANYA JAWAB

Penanya: Sarkono

✓ Apa itu pseudosima?

Jawab: sejenis yeast

