

# STUDI KINETIKA PRODUKSI BIOSURFAKTAN *Bacillus subtilis* 3KP PADA SUBSTRAT MOLASE

Ni'matuzahroh,\* Nur Hidayatul Alami, A. Faiz Khudlari T., Fatimah, dan Tri Nurhariyati

Departemen Biologi, F. SAINTEK, Universitas Airlangga  
Kampus C Unair, Jln. Mulyorejo, Surabaya - Indonesia,

\*E-mail: nimatuzahroh@unair.ac.id

## ABSTRACT

*Bacillus subtilis* 3KP was a bacteria that can produce biosurfactant, when it was grown on a molasses substrate. This research was aimed to know the kinetic type of biosurfactant production, so it can be known the efficiency of molasses and the optimal culture condition to produce biosurfactant. *B. subtilis* 3KP was grown on mineral salt medium that had been already added with various molasses concentrations (1, 2, 3, and 4 g/l). The culture was incubated until 7 days on a shaker at 27° C and 120 rpm. The measurement of bacterial growth (cfu/ml), pH culture changing, and biosurfactant production which was indicated from emulsification activity and crude biosurfactant weight was determined at various incubation periods (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 7 days). Emulsifier activity (E1h) was measured by adding 1 ml of kerosene to 1 ml of biosurfactant supernatant. The measurement was made after 1 hour. The E1h index was given as percentage of height of emulsified layer (cm) divided by total height of the liquid column (cm). Crude biosurfactant was got from ammonium sulfate precipitation, then was dried and was determined in (g/l culture). The data of growth and biosurfactant production were analysed descriptively to know differentiation of biosurfactant production type of *B. subtilis* 3 KP in that different treatment. The examination of kinetics parameters such as product yield ( $Y_{p/x}$ ) and specific rate of culture ( $\mu$ ) were taken into account to evaluate a high efficient production process. The results of this research indicated that biosurfactant of *B. subtilis* 3KP was begun produced at exponential phase and was optimal at the end of exponential phase (production under growth-limiting conditions). Molasses concentration of 3% and 4 days incubation gave an optimal biosurfactant production, so it can be became the exact combination alternative to scale up biosurfactant of *B. subtilis* 3KP.

**Key words:** biosurfactant production kinetics, molasses, *B. subtilis* 3KP

## PENGANTAR

*Bacillus subtilis* 3KP, yang merupakan bakteri hasil koleksi laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi F. Sains dan Teknologi Universitas Airlangga terbukti mampu menghasilkan biosurfaktan ketika ditumbuhkan pada substrat molase (Ni'matuzahroh *et al.*, 2002). Dari hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa jenis biosurfaktan yang dihasilkan tergolong dalam kelompok bioemulsifier. Penambahan biemulsifier dari *B. subtilis* 3KP dalam kultur uji biodegradasi hidrokarbon dapat meningkatkan emulsifikasi hidrokarbon, meningkatkan kontak antara substrat hidrokarbon dan bakteri pendegradasi hidrokarbon sehingga meningkatkan persentase biodegradasinya (Ni'matuzahroh, *et al.*, 2003; Damayanti, 2005). Biosurfaktan *B. subtilis* 3KP juga dapat berfungsi sebagai bahan anti mikroba (Ni'matuzahroh *et al.*, 2005), serta berpotensi untuk digunakan dalam berbagai bidang industri tekstil, petroleum, kosmetika dan makanan, menggantikan surfaktan sintetis yang dinilai tidak ramah lingkungan (Manresa *et al.*, 1991; Onbasli dan Aslim, 2009).

Mengingat peran penting biosurfaktan tersebut di atas, maka upaya komersialisasi produk biosurfaktan *B. subtilis* 3KP menjadi titik fokus penelitian yang penting untuk

dilakukan. Biosurfaktan mampu sepenuhnya menggantikan surfaktan sintetis hanya jika biaya yang dibutuhkan untuk bahan baku dan proses produksinya rendah (Maneerat, 2005). Penggunaan substrat produksi biosurfaktan dari limbah agroindustri yang kaya karbohidrat, seperti molase, mampu menghemat biaya produksi hingga 50%. Di samping itu, penggunaan molase sebagai media produksi biosurfaktan merupakan upaya untuk memanfaatkan limbah dan diharapkan dapat mengurangi biaya penanganan limbah (Nitschke *et al.*, 2004; Kosaric, 1992).

Salah satu kendala yang memengaruhi efisiensi produksi biosurfaktan *B. subtilis* 3KP dengan substrat molase adalah tidak stabilnya perolehan produk biosurfaktan akibat perbedaan komposisi dan konsentrasi nutrisi yang terkandung dalam molase (Ni'matuzahroh *et al.*, 2003; Nitschke *et al.*, 2004). Perbedaan tersebut diduga terkait langsung dengan proses pengolahan gula di mana molase tersebut didapatkan. Berbedanya kadar gula dalam molase yang merupakan sumber karbon utama untuk pertumbuhan bakteri *B. subtilis* 3KP sangat berpengaruh terhadap produktivitas biosurfaktan yang dihasilkan.

Upaya komersialisasi dan peningkatan skala (*scale up*) produksi biosurfaktan *B. subtilis* 3KP pada molase

mengharuskan adanya kondisi yang stabil, sehingga sangat dibutuhkan informasi terkait studi kinetika dan kondisi kultur yang optimal yang memengaruhi produksi biosurfaktan (Manresa *et al.*, 1991). Pada penelitian ini, pola kinetika produksi pada berbagai konsentrasi molase diteliti dengan melakukan pengamatan terhadap kurva pertumbuhan *B. subtilis* 3KP yang dihubungkan dengan aktivitas produksi biosurfaktan. Hasil penelitian ini diharapkan akan dapat memberikan informasi penting tentang konsentrasi molase dan kondisi kultur yang optimum untuk produksi biosurfaktan.

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri penghasil biosurfaktan *B. subtilis* 3KP, koleksi Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga Surabaya, *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Broth* (NB), akuades, molase, air mineral sintesis komposisi Pruthi dan Comeotra (1997) sebagai media pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan, NaOH 4N, HCl 1%, dan hidrokarbon uji (kerosen).

Peralatan utama yang digunakan meliputi: spektrofotometer (spectronic 20 Bausch-Lomb), sentrifuge *Backman*, neraca analitik Shimadzu AEL-200, *freeze dryer*, dan pH meter. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.

### Cara Kerja

Penelitian dilakukan secara bertahap yang meliputi: Pembuatan kultur bakteri, Penghitungan jumlah sel bakteri, Isolasi biosurfaktan, Karakterisasi supernatan, Ekstraksi supernatan biosurfaktan untuk mendapatkan produk kasar biosurfaktan, Pengukuran dan perhitungan parameter kinetika produksi biosurfaktan.

### Pembuatan kultur bakteri

Biakan murni *B. subtilis* 3KP, diperbanyak dalam media *Nutrient Agar* (NA). Biakan bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 27° C. Dua ose bakteri *B. subtilis* 3KP dari media agar miring diinokulasi ke dalam 50 ml media *Nutrient Broth* (NB), diinkubasi selama 15 jam pada suhu 27° C. Sebanyak 2% v/v (kekeruhan suspensi 0,9 pada  $A = 610 \text{ nm}$ ) suspensi bakteri dari media *Nutrient Broth* (NB) ditumbuhkan pada air mineral sintetis komposisi dari Pruthi dan Comeotra (1997). Media ini didapat dengan cara melarutkan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (3 g),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2 g),

NaCl (10 g),  $\text{CaCl}_2$  (0,01 g),  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  (0,001 g),  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (0,001 g),  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,001 g),  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (0,001 g),  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  (0,005 g), dan  $\text{Na}_2\text{M}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,001 g) ke dalam 1L akuades. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan pengaduk magnetik dan pH larutan dinetralkan dengan penambahan NaOH 4N atau HCl 5% kemudian disterilkan. Stok  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (1 g) dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (1 g) dalam 50 ml akuades beserta stok  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (1 g) dalam 50 ml akuades ditambahkan bersamaan dengan kultur bakteri setelah disterilkan secara terpisah. Pada setiap kelompok ditambahkan molase dengan konsentrasi berbeda, yaitu 1%, 2%, 3% dan 4% (b/v). Setiap kelompok terdiri atas 3 ulangan. Kultur bakteri dari setiap variasi konsentrasi diinkubasi di *shaker* inkubator pada suhu 30° C dan agitasi 120 rpm selama 7 hari. Pengamatan dilakukan pada inkubasi 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 hari.

### Penghitungan jumlah dan biomassa sel bakteri

Pertumbuhan bakteri *B. subtilis* 3KP dievaluasi dari peningkatan jumlah sel bakteri menggunakan metode *pour plate* (*Total Plate Count*). Jumlah sel bakteri per mililiter kultur dinyatakan dalam *colony forming units* (*cfu*)/ml. Biomassa sel bakteri dinyatakan dalam berat kering sel bakteri per liter kultur. Kultur bakteri disentrifugasi ( $9000 \times g$ , 4° C, 15 menit) untuk memisahkan sel bakteri dari supernatan. Pelet sel bakteri dicuci dua kali dan diletakkan dalam membran filter. Membran yang mengandung pelet sel bakteri dikeringkan dalam oven 70° C dan ditimbang sampai diperoleh berat yang konstan. Berat kering sel bakteri *B. subtilis* 3KP dinyatakan dalam g/l.

### Isolasi biosurfaktan

Isolasi biosurfaktan dilakukan dengan cara memisahkan sel bakteri dari medium yang mengandung surfaktan dengan sentrifugasi ( $9000 \times g$ , 4° C, 15 menit). Supernatan hasil sentrifugasi dipisahkan dari peletnya dan digunakan untuk proses karakterisasi supernatan dan ekstraksi.

### Karakterisasi supernatan

Karakterisasi supernatan diuji dengan mengukur Aktivitas Emulsifikasi (E1jam) dengan media uji kerosin (Nitschke *et al.*, 2004). Nilai aktivitas emulsifikasi dari biosurfaktan diukur dengan metode visual. Supernatan kultur dengan volume 1 ml ditambah 1 ml kerosen sebagai minyak uji. Campuran ini diaduk dengan *vortex mixer* selama 2 menit dan diamati emulsinya setelah 1 jam. Nilai E1jam diperoleh dari persentase tinggi emulsi yang terbentuk dibagi dengan total tinggi kolom cairan (Tabatabaee *et al.*, 2005).

**Ekstraksi supernatan biosurfaktan untuk mendapatkan produk kasar biosurfaktan**

Ekstraksi supernatan kultur bakteri *B. subtilis* 3KP dilakukan dengan menggunakan pengendapan atau presipitasi amonium sulfat 60%. Amonium sulfat (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ditambahkan ke dalam supernatan kultur sebanyak 113 g/L untuk mengurangi aktivitas air sehingga senyawa aktif permukaan yang semula larut dalam air akan terendapkan dan diperoleh produk kasar biosurfaktan.

**Pengukuran dan perhitungan parameter kinetika produksi biosurfaktan**

Parameter kinetika produksi biosurfaktan yang diukur dalam penelitian ini terdiri atas parameter μ dan Yp/x. Parameter (μ) menyatakan kecepatan pertumbuhan spesifik (per hari). Cara menentukan μ ialah dengan mengamati pada fase pertumbuhan logaritmik dengan rumus:

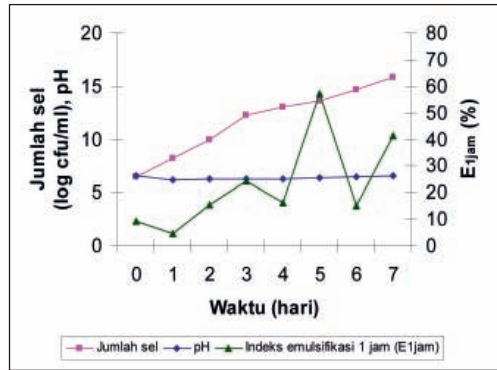
$$\mu = \frac{\ln x_t - \ln x_0}{t}$$

di mana x<sub>t</sub> adalah jumlah sel (cfu/ml) setelah interval waktu t (hari), sedangkan x<sub>0</sub> adalah jumlah sel (cfu/ml) pada waktu t<sub>0</sub> (hari ke-0). Sementara itu, untuk menentukan nilai Yp/x dilakukan dengan cara membagi nilai perolehan produk (g/l) terhadap biomassa sel bakteri (g/l).

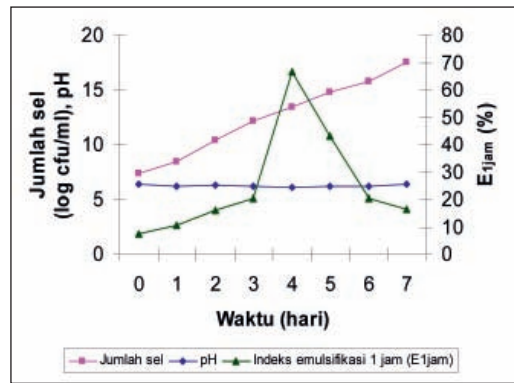
**HASIL**

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap pertumbuhan bakteri dan aktivitas produksi biosurfaktan dengan variasi konsentrasi molase 1–4% dan waktu inkubasi hingga 7 hari, diketahui bahwa dalam waktu 1 hari inkubasi, kurva pertumbuhan dengan empat konsentrasi yang berbeda langsung menuju fase eksponensial tanpa didahului fase lag (Gambar 1–4). Biosurfaktan *B. subtilis* 3KP pada molase

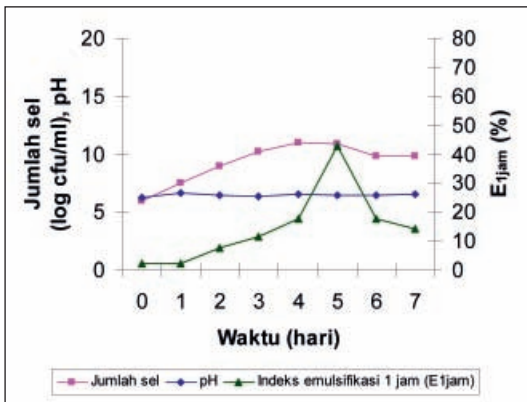
mulai dihasilkan ketika pertumbuhan bakteri *B. subtilis* 3KP berada pada pertengahan fase eksponensial, terus meningkat dan mencapai aktivitas maksimum ketika berada pada fase akhir eksponensial mendekati stationer.



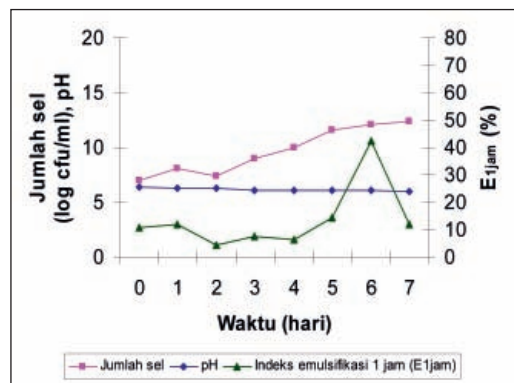
**Gambar 2.** Pertumbuhan, pH, dan aktivitas biosurfaktan *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 2%



**Gambar 3.** Pertumbuhan, pH, dan aktivitas biosurfaktan *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 3%



**Gambar 1.** Pertumbuhan, pH, dan aktivitas biosurfaktan *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 1%



**Gambar 4.** Pertumbuhan, pH, dan aktivitas biosurfaktan *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 4%

**Tabel 1.** Kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 1%

Waktu (hari)	Jumlah sel (cfu/ml)	ln	ln $x_t$ -ln $x_0$	$\mu$
0	$1,03 \times 10^6$	13,84	0	0
1	$3,81 \times 10^7$	17,46	3,61	3,61
2	$1,18 \times 10^9$	20,89	7,05	3,52
3	$1,85 \times 10^{10}$	23,64	9,80	3,27
4	$2,15 \times 10^{11}$	26,09	12,25	3,06
5	$8,39 \times 10^{10}$	25,15	11,31	2,26
6	$6,78 \times 10^9$	22,64	8,79	1,47
7	$9,91 \times 10^9$	23,02	9,17	1,31

**Tabel 2.** Kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 2%

Waktu (hari)	Jumlah sel (cfu/ml)	ln	ln $x_t$ -ln $x_0$	$\mu$
0	$3,15 \times 10^6$	14,96	0	0
1	$2,35 \times 10^8$	19,27	4,31	4,31
2	$1,19 \times 10^{10}$	23,20	8,24	4,12
3	$1,80 \times 10^{12}$	28,22	13,26	4,42
4	$1,73 \times 10^{13}$	30,48	15,52	3,88
5	$9,30 \times 10^{13}$	32,16	17,20	3,44
6	$1,14 \times 10^{15}$	34,67	19,70	3,28
7	$7,87 \times 10^{15}$	36,60	21,64	3,09

**Tabel 3.** Kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 3%

Waktu (hari)	Jumlah sel (cfu/ml)	ln	ln $x_t$ -ln $x_0$	$\mu$
0	$9,65 \times 10^6$	16,08	0	0
1	$2,14 \times 10^8$	19,18	3,10	3,10
2	$3,13 \times 10^7$	17,26	1,18	0,59
3	$2,91 \times 10^9$	21,79	5,71	1,90
4	$2,22 \times 10^{10}$	23,83	7,74	1,94
5	$7,27 \times 10^{11}$	27,31	11,23	2,25
6	$1,73 \times 10^{12}$	28,18	12,09	2,02
7	$2,80 \times 10^{12}$	28,66	12,58	1,80

Pada pertumbuhan dengan konsentrasi molase 3% (Gambar 3), fase eksponensial terus berlanjut hingga hari ke-3. Setelah itu, pertumbuhan bakteri mengalami perlambatan. Hal tersebut secara nyata ditunjukkan dari nilai kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) mulai hari keempat yang mengalami perlambatan (Tabel 3). Sementara itu, bila dihubungkan antara Tabel 3 dengan Gambar 3, terlihat bahwa aktivitas optimal biosurfaktan mulai terjadi ketika kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) mengalami perlambatan, yaitu pada hari ke-4 (Tabel 3), dengan nilai aktivitas emulsi ( $E_{1 \text{ jam}}$ ) pada hari ke-4 sebesar 66,72%

**Tabel 4.** Kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) *B. subtilis* 3KP pada media air mineral sintetis ditambah molase dengan konsentrasi 4%

Waktu (hari)	Jumlah sel (cfu/ml)	ln	ln $x_t$ -ln $x_0$	$\mu$
0	$5,12 \times 10^7$	17,75	0	0
1	$2,97 \times 10^8$	19,51	1,76	1,76
2	$2,37 \times 10^{10}$	23,89	6,14	3,07
3	$1,69 \times 10^{12}$	28,16	10,40	3,47
4	$2,50 \times 10^{13}$	30,85	13,10	3,27
5	$6,26 \times 10^{14}$	34,07	16,32	3,26
6	$6,88 \times 10^{15}$	36,47	18,72	3,12
7	$3,34 \times 10^{17}$	40,35	22,60	3,23

Keterangan: Tabel 1–4:  $x_t$  = jumlah sel (cfu/ml) setelah interval waktu t (hari);  $x_0$  = jumlah sel (cfu/ml) pada waktu  $t_0$  (hari ke-0);  $\mu$  = kecepatan pertumbuhan spesifik (per hari).

(Gambar 3). Hal yang sama juga terjadi pada konsentrasi molase yang lain. Dari Gambar 2 dan Tabel 2, terlihat bahwa aktivitas optimal biosurfaktan pada konsentrasi molase 2% ( $E_{1 \text{ jam}}$  sebesar 57,38%) mulai terjadi ketika kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) mengalami perlambatan, yaitu pada hari ke-5. Sementara itu, untuk konsentrasi molase 1%, aktivitas optimal biosurfaktan ( $E_{1 \text{ jam}}$  sebesar 42,71%) mulai terjadi ketika kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) mengalami perlambatan, yaitu pada hari ke-5 (Gambar 1 dan Tabel 1). Untuk konsentrasi molase 4%, aktivitas optimal biosurfaktan ( $E_{1 \text{ jam}}$  sebesar 42,27%) mulai terjadi ketika kecepatan pertumbuhan spesifik ( $\mu$ ) mengalami perlambatan, yaitu pada hari ke-6 (Gambar 4 dan Tabel 4).

Pengamatan terhadap pH kultur juga dilakukan selama 7 hari inkubasi. Dari Gambar 1–4 diketahui kisaran pH kultur dari keempat kultur produksi biosurfaktan dengan perbedaan konsentrasi molase. Nilai pH kultur diperoleh kurang lebih sebesar 6.

Untuk menunjang upaya produksi biosurfaktan pada skala yang lebih besar, maka perolehan produk yang terbentuk harus dipantau. Dari Tabel 5 terlihat bahwa konsentrasi molase 1% memiliki nilai perbandingan perolehan produk (g/l) terhadap biomassa sel (g/l) ( $Y_p/x$ ) yang paling tinggi, tapi dengan nilai aktivitas emulsi yang masih lebih rendah dibanding konsentrasi molase 2% dan 3%. Nilai aktivitas emulsi terbaik justru didapat oleh konsentrasi molase 3%, dengan nilai  $Y_p/x$  yang sedikit lebih rendah dibanding 1%. Akan tetapi, pada konsentrasi molase 3%, waktu inkubasi optimal untuk mendapatkan biosurfaktan dengan aktivitas emulsi terbaik diperoleh lebih cepat dibanding konsentrasi molase yang lain, yaitu pada hari ke-4.

**Tabel 5.** Pengaruh konsentrasi molase dan rasio C/N terhadap perolehan produk biosurfaktan dan nilai emulsifikasi 1 jam ( $E_{1 \text{ jam}}$ ) pada tiap waktu inkubasi optimalnya

Konsentrasi molase (%)	C/N	Waktu inkubasi optimal	Jumlah sel (cfu/ml)	Biomassa sel (g/l)	Produk kasar (g/l)	Yp/x (g/l)	$E_{1 \text{ jam}}$ (%)
1	2	5 Hari	$8,39 \times 10^{10}$	4,31	8,75	2,03	42,71
2	3	5 Hari	$9,30 \times 10^{13}$	5,89	7,54	1,28	57,38
3	7	4 Hari	$2,50 \times 10^{13}$	5,6	10,71	1,91	66,72
4	8	6 Hari	$1,73 \times 10^{12}$	5	8,18	1,64	42,27

## PEMBAHASAN

Kinetika produksi biosurfaktan bervariasi bergantung spesies mikroba, substrat pertumbuhan, dan faktor lingkungan yang mendukung pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme (Desai dan Banat, 1997; Ni'matuzahroh *et al.*, 2003). Kajian kinetika produksi biosurfaktan menggambarkan hubungan yang terjadi antara pertumbuhan mikroorganisme, penggunaan substrat, produk yang terbentuk, serta perubahan kondisi lingkungan yang terjadi dari hasil proses metabolisme mikroorganisme dalam suatu kultur produksi biosurfaktan. Oleh karena itu, analisis pola kinetika produksi biosurfaktan dalam penelitian ini didasarkan pada analisis terhadap fase-fase pertumbuhan *Bacillus subtilis* 3KP dengan aktivitas biosurfaktan yang dihasilkan di setiap fase tersebut.

Dari kurva pertumbuhan bakteri pada Gambar 1–4, diketahui bahwa pertumbuhan tidak diawali dengan fase lag. Hal ini sering kali tidak terjadi atau berlangsung sangat singkat sebagaimana dilaporkan dalam penelitian Suwansukho *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa pertumbuhan *Bacillus subtilis* MUV4 pada media Mckeen dengan penambahan glukosa 0,5–2,5% hanya mengalami fase lag pada 6 jam pertama.

Dari hasil pengamatan aktivitas biosurfaktan (Gambar 1–4 dan Tabel 1–4) di atas, diketahui bahwa biosurfaktan diproduksi optimal seiring dengan berakhirnya fase eksponensial atau pada awal stasioner. Hal ini mirip dengan pola kinetika produksi biosurfaktan *Bacillus cereus*, yang mulai diproduksi ketika sel mulai lisis (Cooper dan Goldenberg, 1987).

Beberapa biosurfaktan berperan untuk meningkatkan transport nutrisi lintas membran dan berperan untuk proteksi bagi mikroba penghasilnya ketika kondisi terbatas (Jennings dan Tanner, 2000; Rodrigues *et al.*, 2006). Ketika kultur telah mencapai fase stasioner, maka kadar C, N, dan elemen-elemen lain, seperti; besi, juga mulai terbatas. Oleh karena itu, pada fase tersebut aktivitas biosurfaktan cenderung semakin meningkat, meskipun pada kenyataannya sel tetap mengalami fase stasioner

(*Production under Growth-Limiting Conditions*) (Desai dan Banat, 1997; Abouseoud *et al.*, 2008).

Faktor lingkungan dan kondisi pertumbuhan, seperti; pH, temperatur, agitasi, dan ketersediaan oksigen juga dapat memengaruhi produksi biosurfaktan. Oleh karena itu, dilakukan pengendalian terhadap faktor-faktor tersebut. Kisaran pH untuk seluruh kelompok konsentrasi molase hingga hari ke-7 adalah kurang lebih sebesar 6 (Gambar 1–4). Kisaran pH tersebut masih cukup baik untuk produksi biosurfaktan (Tabatabaee *et al.*, 2005).

Dari Tabel 5 terlihat bahwa perbedaan konsentrasi molase akan memberikan perbedaan terhadap pencapaian waktu inkubasi optimal untuk memproduksi biosurfaktan. Secara keseluruhan, aktivitas biosurfaktan pada keempat konsentrasi menunjukkan hasil yang cukup bagus, dengan kisaran nilai AE antara 42,27–66,72%.

Penghitungan nilai perbandingan perolehan produk (g/l) terhadap biomassa sel (g/l) ( $Y_p/x$ ) sebagai salah satu parameter kinetika produksi biosurfaktan, digunakan untuk mengetahui efisiensi proses produksi biosurfaktan. Semakin tinggi nilai  $Y_p/x$ , maka proses produksi biosurfaktan semakin efisien. Akan tetapi, efisiensi proses produksi biosurfaktan juga perlu memperhatikan pencapaian waktu inkubasi optimal dan aktivitas produk optimal ( $E_{1 \text{ jam}}$ ). Dari Tabel 5 terlihat bahwa nilai  $Y_p/x$  tertinggi dicapai oleh produksi biosurfaktan dengan konsentrasi molase 1% (rasio C/N = 2). Akan tetapi, tingginya nilai  $Y_p/x$  pada konsentrasi molase 1% dibanding konsentrasi molase lainnya, tidak diikuti dengan tingginya nilai  $E_{1 \text{ jam}}$  konsentrasi molase 1% terhadap konsentrasi lainnya (konsentrasi molase 2% dan 3%). Selain itu, waktu inkubasi untuk mencapai nilai aktivitas emulsi optimal ( $E_{1 \text{ jam}}$ ) baru dicapai pada hari ke-5. Lain halnya dengan konsentrasi molase 3% (rasio C/N = 7), meskipun nilai  $Y_p/x$  tidak lebih tinggi dari konsentrasi molase 1%, tetapi waktu inkubasi optimal dicapai paling cepat dibanding konsentrasi lainnya (4 hari), dengan nilai  $E_{1 \text{ jam}}$  paling tinggi dibanding konsentrasi lainnya, yaitu sebesar 66,72%. Bila digunakan pada skala produksi yang lebih besar, maka konsentrasi 3% akan lebih menguntungkan secara ekonomis.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa tipe produksi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP adalah tipe produksi biosurfaktan seiring dengan berakhirnya fase eksponensial atau pada awal stasioner (*Production under Growth-Limiting Conditions*). Konsentrasi optimal molase untuk memproduksi biosurfaktan adalah pada konsentrasi molase 3%, dengan waktu inkubasi optimal 4 hari.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan hasil penelitian Fundamental tahun 2010 yang dibiayai oleh DIPA Universitas Airlangga.

## KEPUSTAKAAN

- Abouseoud M, Maachi R, Amrane A, Boudergua S, Nabi A, 2008. Evaluation of Different Carbon and Nitrogen Sources in Production of Biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. *Elsevier. Desalination*, 223: 143–151.
- Cooper DG dan Goldenberg BG, 1987. Surface Active Agents from Two *Bacillus* Species. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 224–229.
- Damayanti A, 2005. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Biosurfaktan terhadap Biodegradasi Minyak Pelumas oleh *Pseudomonas aeruginosa* IA7d. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.
- Desai JD dan Banat IM, 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 61(1): 47–64.
- Jennings EM dan Tanner RS, 2000. Biosurfactant Producing Bacteria Found in Contaminated and Uncontaminated Soils. *Proceedings of the 2000 Conference on Hazardous Waste Research*.
- Kosaric N, 1992. Biosurfactants in Industry. *Pure & Appl. Chem.*, 64(11): 1731–1737.
- Maneerat S, 2005. Production of Biosurfactants Using Substrates from Renewable Resources. *Songklanakarin Journal Science Technology*, 27(3): 675–683.
- Manresa MA, Bastida J, Mercade ME, Robert M, de Andres C, Espuny MJ, dan Guinea J, 1991. Kinetic Studies on Surfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T1. *Journal of Industrial Microbiology*, 8(1991): 133–136.
- Ni'matuzahroh, Surtiningsih T, Isnaeni, 2002. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Lingkungan Tercemar Minyak dalam Memproduksi Biosurfaktan: Upaya Bioremediasi Lingkungan. *Laporan Penelitian RUT VIII.2*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Ni'matuzahroh, Surtiningsih T, Isnaeni, 2003. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Lingkungan Tercemar Minyak dalam Memproduksi Biosurfaktan: Upaya Bioremediasi Lingkungan. *Laporan Penelitian RUT VIII.3*. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Ni'matuzahroh, Supriyanto A, Nurhariyati T, 2005. Daya Hambat Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D: Upaya mengungkap aplikasi biosurfaktan sebagai bahan anti mikroba patogen dan fitopatogen. *Laporan Riset Grand DUE Like Prodi Biologi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Nitschke M, Ferraz C, dan Pastore GM, 2004. Selection of Microorganisms for Biosurfactant Production Using Agroindustrial Wastes. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35: 81–85.
- Onbasli, Dilsad dan Aslim B, 2009. Biosurfactant Production in Sugar Beet Molasses by Some *Pseudomonas* spp. *Journal of Environmental Biology*, 30(1): 161–163.
- Pruthi V dan Cameotra SS, 1997. Rapid Identification of Biosurfactant Producing Bacterial Strain Using a Cell Surface Hydrophobicity Techniques. *Biotechnol Technique*. 11(9): 671–674.
- Rodrigues L, Banat M, Teixeira J, dan Oliveira R, 2006. Biosurfactants: Potential Applications in Medicine. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy Advance Access*, 1–10.
- Suwansukho P, Rukachisirikul V, Kawai F, dan H-Kittikun A, 2008. Production and applications of biosurfactant from *Bacillus subtilis* MUV4. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 30: 87–93.
- Tabatabaee A, Mazaheri Assadi M, Noohi AA, dan Sajadian VA, 2005. Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria from Oil Reservoirs. *Iranian J Env Health Sci Eng*. 2(1): 6–12.

Reviewer: **Dr. Tini Surtiningsih, DEA**