Life Science 15 (1) (2026)

Life Science

https://journal.unnes.ac.id/journals/UnnesJLifeSci

Pengaruh Konsentrasi Inokulum *Pseudomonas aeruginosa* PS-5 dalam Produksi Biosurfaktan dengan Limbah *Palm Acid Oil* sebagai Sumber Karbon

Kesha Purwaning Sari [1)], Siti Khotimah ✉ [1)], Rikhsan Kurniatuhadi[1)], Rahmawati[1)]

[1)]Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia 78124

Info Artikel

Diterima:
17 Oktober 2024
Disetujui:
20 Mei 2026
Dipublikasikan:
31 Mei 2026

Keywords:
biosurfactant; emulsification; inoculum; oil spreading test; palm acid oil
biosurfaktan; emulsifikasi; inokulum; test penyebaran minyak; minyak asam kelapa sawit

Abstract

Palm acid oil (PAO) is a by-product of the chemical refining of crude palm oil (CPO), generated through the acidulation of soapstock. Its relatively high free fatty acid (FFA) content makes PAO a potential oil-based material for biosurfactant production. This study aimed to evaluate the biosurfactant activity of Pseudomonas aeruginosa PS-5 in a PAO-containing medium at different inoculum concentrations. The research was conducted from February to April 2024 at the Microbiology Laboratory, Biology Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Indonesia. A Completely Randomized Design (CRD) with four treatment levels and five replicates was employed. Biosurfactant production was carried out using Mineral Salt Medium (MSM) supplemented with 10% PAO, 0.3 g/L glucose, and 0.3 g yeast extract, with inoculum concentrations of 5%, 10%, and 15%. Fermentation was performed at 25°C with an agitation speed of 160 rpm for 120 hours. Biosurfactant activity was evaluated using the oil-spreading assay, measured as the oil displacement area (ODA), and the emulsification index after 24 hours (IE24). The results showed that all inoculum concentration treatments exhibited oil-spreading and emulsification activities. The highest numerical ODA value was obtained at an inoculum concentration of 10%, reaching 22.99 ± 9.43 cm², while the highest IE24 value reached 98%. Statistical analysis showed no significant differences in ODA among the 5%, 10%, and 15% inoculum concentrations. Similarly, the IE24 value at 10% did not differ significantly from that at 15%. This study provides preliminary information on the biosurfactant activity of P. aeruginosa PS-5 in a PAO-containing medium. Further research is required to characterize the compounds produced and investigate their potential applications in bioremediation.

Abstrak

Palm acid oil (PAO) merupakan produk samping industri kelapa sawit dari proses pemurnian *crude palm oil* (CPO) secara kimiawi melalui pengasaman *soapstock*. Kandungan asam lemak bebas (*free fatty acid*/FFA) yang relatif tinggi menjadikan PAO berpotensi dimanfaatkan sebagai bahan berbasis minyak dalam produksi biosurfaktan. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi aktivitas biosurfaktan yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* PS-5 pada medium yang mengandung PAO berdasarkan variasi konsentrasi inokulum. Penelitian dilaksanakan pada Februari hingga April 2024 di Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan empat taraf perlakuan dan lima ulangan. Produksi biosurfaktan dilakukan menggunakan *Mineral Salt Medium* (MSM) dengan penambahan 10% PAO, glukosa 0,3 g/L, dan *yeast extract* 0,3 g, serta variasi konsentrasi inokulum 5%, 10%, dan 15%. Fermentasi dilakukan pada suhu 25°C dengan kecepatan agitasi 160 rpm selama 120 jam. Aktivitas biosurfaktan dievaluasi melalui uji *oil spreading* berdasarkan *oil displacement area* (ODA) dan uji indeks emulsifikasi (IE24). Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh perlakuan konsentrasi inokulum menghasilkan aktivitas penyebaran minyak dan emulsifikasi. Nilai ODA tertinggi secara numerik diperoleh pada konsentrasi inokulum 10%, yaitu 22,99 ± 9,43 cm², sedangkan nilai IE24 tertinggi mencapai 98%. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa nilai ODA pada konsentrasi inokulum 5%, 10%, dan 15% tidak berbeda nyata, sementara nilai IE24 pada konsentrasi 10% tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 15%. Penelitian ini memberikan informasi awal mengenai aktivitas biosurfaktan oleh P. aeruginosa PS-5 pada medium mengandung PAO. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengkarakterisasi senyawa dan aplikasinya dalam bioremediasi.

© 2026 Universitas Negeri Semarang

Alamat korespondensi:
Jl. Prof. Dr. Hadari Nawawi, Bansir Laut, Pontianak
E-mail: siti.khotimah@fmipa.untan.ac.id

p-ISSN 2252-6277
e-ISSN 2528-5009

PENDAHULUAN

Kelapa sawit (*Elais quineensis* Jacq.) merupakan komoditas unggulan di sektor industri penghasil minyak masak, minyak industri, dan bahan bakar yang memiliki nilai ekonomi sangat tinggi. Pengolahan CPO menjadi minyak yang layak konsumsi dilakukan melalui pemurnian, baik secara fisika maupun kimia/alkali. Pemurnian fisik memisahkan FFA melalui proses deodorisasi atau distilasi uap yang menghasilkan palm fatty acid distilate (PFAD) (Lee & Ofori-Boateng, 2013). Sementara itu, pemurnian kimia/alkali dilakukan melalui proses netralisasi dengan penambahan natrium hidroksida (NaOH) untuk menetralkan asam lemak bebas (ALB) atau *free fatty acid* (FFA) sehingga terbentuk *soapstock*. Pengolahan lebih lanjut melalui proses pengasaman (acidulation) terhadap *soapstock* menghasilkan produk samping berupa *palm acid oil* (PAO) (Wayan *et al.,* 2012). Perbedaan proses pembentukan tersebut menunjukkan bahwa PAO dan PFAD merupakan dua produk samping industri kelapa sawit yang memiliki karakteristik berbeda.

PAO memiliki potensi untuk dimanfaatkan sebagai subtrat dalam proses bioteknologi karena dilaporkan memiliki kandungan FFA relatif tinggi. Kuntom *et al.* (1994) melaporkan bahwa analisis kandungan PAO pada 27 sampel diperoleh rata-rata nilai FFA 62,6%. Asam lemak mrupakan komponen mikroorganisme sebagai sumber karbon dan energi untuk mendukung aktivitas metabolisme. Pemanfaatan PAO dalam proses fermentasi berpotensi meningkatkan nilai guna produk samping industri kelapa sawit. Salah satu produk bioteknologi yang berpotensi dihasilkan melalui pemanfaatan substrat berbasis minyak adalah biosurfaktan.

Biosurfaktan merupakan senyawa aktif permukaan yang dihasilkan secara ekstraseluler oleh mikroorganisme, termasuk jamur, ragi, aktinomisetes, dan bakteri. Produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh berbagai faktor, antara lain jenis dan konsentrasi sumber karbon, sumber nitrogen, suhu, pH, agitasi, dan oksigen dalam menghasilkan produk (Desai & Banat, 1997). Biosurfaktan memiliki potensi pemanfaatan dalam berbagai industri, seperti kosmetik, pangan, farmasi, pertanian, pembersih, dan minyak bumi karena biosurfaktan memiliki kemampuan menurunkan tegangan permukaan atau tegangan antarmuka serta membantu proses emulsifikasi (Sarubbo *et al.,* 2015). Salah satu kelompok bakteri yang banyak dikaji dalam produksi biosurfaktan adalah genus *Pseudomonas*, yang diketahui mampu menghasilkan rhamnolipid. Namun, kemampuan mikroorganisme dalam memproduksi biosurfaktan dapat berbeda antarspesies atau antarisolat karena dipengaruhi oleh karakteristik fisiologis dan kemampuan metaboliknya. Oleh karena itu, ekplorasi isolat lokal menjadi salah satu pendekatan untuk mengetahui potensi mikroorganisme dalam meghasilkan snyawa dengan aktivitas biosurfaktan..

Penelitian mengenai pemanfaatan bahan berbasis minyak sawit dalam produksi biosurfaktan telah dilaporkan dalam berbagai penelitian sebelumnya. Radzuan *et al.* (2017) melaporkan bahwa produksi rhamnolipid oleh Pseudomonas aeruginosa PAO1 menggunakan Palm Fatty Acid Distillate (PFAD) mampu menghasilkan rhamnolipid sebesar 0,43 g/L. Rhamnolipid yang dihasilkan mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 29 mN/m dan menunjukkan indeks emulsifikasi 30%. Nurfarahin *et al.* (2019) mengembangkan medium berbasis PFAD untuk produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas* sp.

LM19 melalui optimasi komposisi medium menggunakan *response surface methodology* (RSM). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa optimasi komposisi medium dapat meningkatkan produktivitas biosurfaktan. Radzuan *et al.* (2021) juga mengembangkan produksi rhamnolipid menggunakan PFAD dan *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) pada skala bioreaktor dengan *P. aeruginosa* PAO1. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa pemanfaatan produk samping pemurnian minyak sawit dapat mendukung produksi rhamnolipid, dengan konsentrasi rhamnolipid kasar mencapai 1,06 g/L menggunakan PFAD dan 2,1 g/L menggunakan FAME. Secara keseluruhan, penelitian-penelitian tersebut menunjukkan potensi bahan berbasis minyak sawit sebagai substrat produksi biosurfaktan, tetapi masih berfokus pada penggunaan PFAD dan FAME, optimasi komposisi medium, serta pengembangan produksi rhamnolipid.

Meskipun penelitian terdahulu telah menunjukkan potensi PFAD dalam produksi biosurfaktan, PFAD memiliki proses pembentukan yang berbeda dari PAO sehingga karakteristik keduanya tidak sama. Oleh karena itu, pemanfaatan PAO sebagai substrat produksi biosurfaktan masih perlu dieksplorasi lebih lanjut, khususnya menggunakan isolat lokal. Penelitian ini menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* PS-5 koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Biologi, Universitas Tanjungpura. Isolat tersebut dilaporkan memiliki kemampuan mendegradasi bahan organik berupa karbohidrat, lemak, dan protein (Sitanggang, 2023) .

Kemampuan degradasi lipid menjadi salah satu karakteristik yang mendasari pemilihan isolat ini karena PAO merupakan bahan berbasis minyak yang mengandung komponen asam lemak dan berpotensi dimanfaatkan sebagai substrat dalam proses fermentasi. Selain itu, kemampuan degradasi karbohidrat menjadi karakteristik pendukung karena medium produksi juga mengandung glukosa 0,3 g/L sebagai sumber karbon tambahan. Kemampuan degradasi protein menunjukkan bahwa isolat PS-5 memiliki karakteristik metabolik dalam menguraikan berbagai bahan organik. Meskipun demikian, kemampuan degradasi tersebut belum membuktikan kemampuan isolat dalam menghasilkan biosurfaktan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas biosurfaktan yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* PS-5 pada variasi konsentrasi inokulum 5%, 10%, dan 15% dalam medium PAO dan glukosa 0,3 g/L. Aktivitas tersebut dievaluasi berdasarkan parameter *Oil Displacement Area* (ODA) dan Indeks Emulsifikasi (IE24). Dengan demikian, kebaruan penelitian ini terletak pada eksplorasi isolat lokal *P. aeruginosa* PS-5 pada medium yang mengandung PAO serta evaluasi aktivitas penyebaran minyak dan emulsifikasi berdasarkan variasi konsentrasi inokulum. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi awal mengenai potensi pemanfaatan PAO dalam produksi senyawa yang memiliki aktivitas biosurfaktan.

Pemanfaatan mikroorganisme dalam produksi biosurfaktan dengan menggunakan sumber karbon dari hasil samping industri menjadi salah satu pendekatan bioteknologi yang mendukung prinsip keberlanjutan. Penggunaan PAO sebagai substrat dalam produksi biosurfaktan berpotensi meningkatkan nilai guna hasil samping industri kelapa sawit melalui konversi bahan bernilai rendah menjadi produk bioteknologi yang memiliki nilai tambah. Pendekatan ini sejalan dengan *Sustainable Development Goals* (SDGs) tujuan ke-12 (*Responsible Consumption and Production*), khususnya target 12.5 mengenai

pengurangan limbah melalui pemanfaatan kembali dan daur ulang. Selain itu, pengembangan produksi biosurfaktan menggunakan isolat lokal *P. aeruginosa* PS-5 juga mendukung SDGs tujuan ke-9 (*Industry, Innovation, and Infrastructure*) melalui pengembangan inovasi bioteknologi berbasis sumber daya lokal. Produk biosurfaktan yang dihasilkan selanjutnya berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen dalam aplikasi bioremediasi sehingga membuka peluang kontribusi terhadap SDGs tujuan ke-6 (*Clean Water and Sanitation*). Namun, penerapan biosurfaktan dalam bioremediasi masih memerlukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi senyawa yang dihasilkan serta mengevaluasi efektivitas dan keamanannya.

METODE

Palm acid oil (PAO) diperoleh dari limbah domestik pabrik kelapa sawit di Pontianak. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari hingga April 2024. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak. Variabel bebas meliputi konsentrasi inokulum bakteri *P. aeruginosa* PS-5. Variabel terikat meliputi ODA dan IE_{24}. Variabel kontrol meliputi penambahan PAO 10%, shaker 160 rpm, suhu 25°C, dan inkubasi selama 120 jam. Rancangan penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu konsentrasi inokulum bakteri, empat taraf, dengan 5 kali pengulangan.

Peremajaan Bakteri dan Pembuatan Starter

Biakan murni bakteri *P. aeruginosa* diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan pada media *Pseudomonas Isolation Agar* (PIA) diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Bakteri yang telah diremajakan diambil sebanyak 2-3 ose dan diinokulasikan pada media *Nutrient Broth* (NB) sebanyak 50 mL sebagai prekultur, kemudian diinkubasi dalam *shaker* pada suhu 25°C selama 24 jam. Kemudian, starter dilakukan pengukuran absorbansi sel setiap 2 jam sekali hingga diperoleh nilai optical density (OD) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm hingga mencapai nilai 0.8-1.0.

Pembuatan Media Produksi Biosurfaktan

Produksi biosurfaktan dilakukan dengan pembuatan media *Mineral Salt Medium* (MSM) dengan komposisi KH_2PO_4 2g/L; KH_2HPO_4 5 g/L; $(NH_4)_2SO_4$ 3 g/L; NaCl 0,1 g/L; $FeSO_4.7H_2SO_4$ 0,01 g/L; $MgSO_4.7H_2O$ 0,2 g/L; $CaCl_2.7H_2O$ 0,2 g/L; $MnSO_4.H_2O$ 0,002 g/L; glukosa 0,3 g/L, kemudian ditambahkan 0,3 g *yeast extract* sebagai sumber nitrogen organik. pH medium disesuaikan hingga 7, kemudian disterilkan dengan autoklaf 121°C selama 15 menit.

Produksi Biosurfaktan

Produksi biosurfaktan dilakukan mengacu pada penelitian yang dilakukan Amraini *et al.* (2022)dengan fermentasi sistem *batch* dalam *flask* berkapasitas 250 mL. Fermentasi dilakukan dengan penambahan 10% limbah PAO pada *flask* berisi 100 mL media MSM. Kemudian ditambahkan kultur bakteri dari media NB dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Fermentasi dilakukan selama 120 jam dengan shaker kecepatan 160 rpm pada suhu 25°C. Setelah difermentasi, supernatan dan pelet dipisahkan dengan cara disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Kemudian, supernatan yang telah difermentasi disaring menggunakan kertas saring digunakan untuk pengujian aktivitas biosurfaktan.

Oil Spreading Test

Uji *oil spreading* dilakukan dengan metode yang dilakukan oleh Wibisana *et al.* (2018) dengan modifikasi yaitu dituangkan 25 mL akuades ke dalam cawan petri berdiameter 9 cm. Kemudian di atas air ditetesi 100 µL limbah PAO sehingga membentuk lapisan tipis minyak di atas air. Di atas lapisan minyak ditetesi 20 µL supernatan hasil fermentasi. Zona bening diukur menggunakan jangka sorong dan dihitung nilai *oil displacement area* (ODA) berdasarkan diameternya dengan rumus di bawah ini.

$$ODA = \pi r^2$$ (Rahayu & Prasetyo, 2020)

Keterangan: $\pi = 22/7$; r= jari-jari

Uji Indeks Emulsifikasi

Uji emulsifikasi dilakukan mengacu pada Gozan *et al.* (2014) dengan mengisi 2 mL PAO dan 2 mL supernatan hasil fermentasi dengan perbandingan ke dalam tabung reaksi. Kemudian, campuran dihomogenkan menggunakan vortex selama 2 menit dan diinkubasi selama 24 jam. Indeks Emulsifikasi (IE_{24}) dihitung dengan rumus berikut.

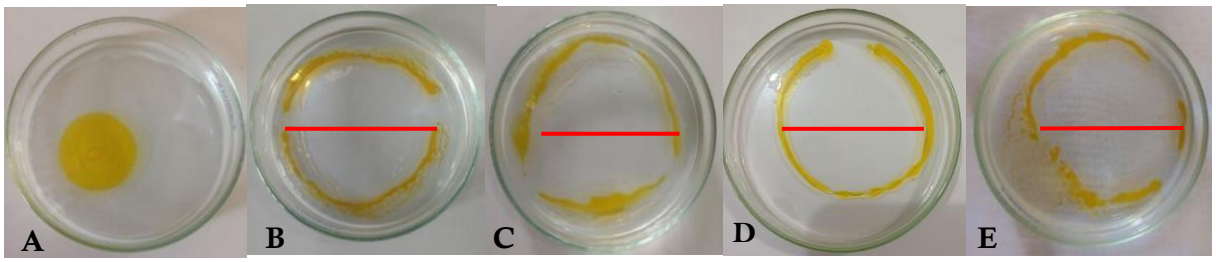
$$IE_{24} = \frac{Tinggi\ Lapisan\ Emulsi}{Tinggi\ Total\ Larutan} x\ 100\%$$ (Cooper *et al.,* 1981)

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) *One Way* dengan derajat kepercayaan 95% ($p<0,05$) dan uji lanjut Duncan. Analisis data ini dilakukan dengan menggunakan *software* R dan R Studio.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil produksi biosurfaktan dilakukan uji *spreading test* menunjukkan bahwa terbentuk zona penyebaran minyak atau ODA pada semua perlakuan yang disajikan pada (Gambar 1).



Gambar 1. *Oil Spreading Test*. (A) Tanpa biosurfaktan, (B) Inokulum 5%, (C) Inokulum 10%, (D) Inokulum 15%, (D) Tween 80. (-) = ODA

P. aeruginosa PS-5 yang digunakan pada penelitian ini menunjukkan aktivitas biosurfaktan yaitu terbentuk zona bening atau ODA. Hasil uji Anova, *p-value* lebih kecil dari nilai alpha ($\alpha=0,05$) artinya H_0 ditolak sehingga ada pengaruh antara variasi konsentrasi inolukum terhadap nilai ODA.

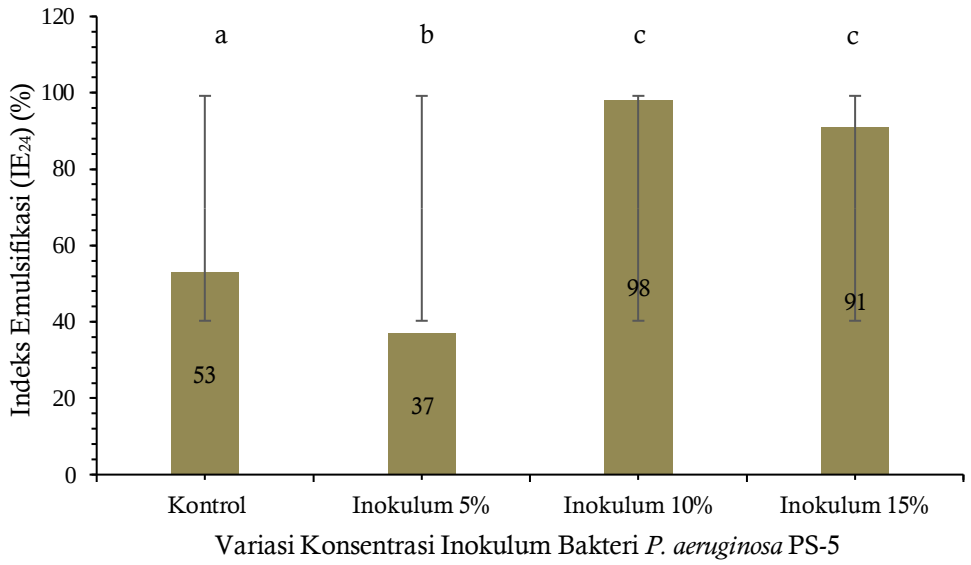
Tabel 1. *Oil Displacement Area* (ODA) dari Produksi Biosurfaktan oleh *P. aeruginosa* PS-5

No.	Perlakuan	ODA ± SD (cm²)	Skoring
1.	Tween 80 (Kontrol)	34,26 ± 5,04[a]	++++
2.	Inokulum 5%	16,77 ± 8,30[b]	+++
3.	Inokulum 10%	22,99 ± 9,43[b]	+++
4.	Inokulum 15%	19,20 ± 4,14[b]	+++

Keterangan: Skoring: tidak terbentuk nilai ODA = -; ODA 0,1-3,14 cm^2; ODA 3,14-12,57 cm^2 = ++; ODA 12,57-28,28 cm^2 = +++; ODA >28,28 cm^2 = ++++ (Techaoei *et al*., 2011).
SD= Standar Deviasi

Hasil uji Duncan nilai ODA (Tabel 1) menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan 5%, 10%, dan 15% yang ditunjukkan oleh pangkat yang sama. Biosurfaktan yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* PS-5 oleh konsentrasi 5%, 10% dan 15% tidak berbeda nyata (notasi b). Nilai ODA konsentrasi inokulum 10% menunjukkan nilai yang paling besar (22,99 cm^2) dibanding inokulum 5% (16,77 cm^2), dan 15% (19,20 cm^2).

Aktivitas Indeks Emulsifikasi menunjukkan bahwa hasil tidak terdistribusi normal sehingga dilakukan uji non parametrik. Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa *p-value* lebih kecil dari nilai alpha (α=0,05) artinya H_0 ditolak sehingga ada pengaruh antara variasi konsentrasi inokulum terhadap indeks emulsifikasi (IE_{24}) yang ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh Konsentrasi Inokulum *P. aeruginosa* PS-5 terhadap Indeks Emulsifikasi (IE*24*)

Hasil analisa Mann-Whitney (Gambar 2) diketahui bahwa IE_{24} yang berasal dari biosurfaktan hasil produksi dengan penambahan inokulum bakteri *P. aeruginosa* PS-5 dengan konsentrasi 5%, 10%, 15% dengan sumber karbon dari PAO pada media MSM menunjukkan perbedaan yang nyata. Namun, konsentrasi 10% dan 15% tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Perlakuan dengan konsentrasi inokulum 10% menunjukkan IE_{24} paling tinggi yaitu 98%.

Hasil penelitian menunjukkkan bahwa konsentrasi inokulum bakteri P. *aeruginosa* PS-5 berpengaruh terhadap produksi biosurfaktan yang ditunjukkan oleh ODA dan IE_{24}. Hasil uji Duncan nilai

ODA (Tabel 1.) menunjukkan hasil *oil spreading test* signifikan antara Tween 80 (34,26 cm^2) dan biosurfaktan dari bakteri *P. aeruginosa PS-5* konsentrasi inokulum 5% (16,77 cm^2) tidak ada perbedaan yang signifikan antar perlakuan 5%, 10%, dan 15% yang ditunjukkan oleh pangkat yang sama. Namun, zona penyebaran minyak yang terbentuk (Gambar 2) telah mengindikasikan bahwa biosurfaktan dari produksi bakteri *P. aeruginosa* PS-5 konsentrasi 5%, 10% dan 15% pada PAO dapat mengurangi tegangan permukaan antara air dan minyak. Hal ini menunjukkan bahwa, bakteri *P. aeruginosa* PS-5 memiliki aktivitas produksi biosurfaktan meskipun tidak sebaik surfaktan sintetik seperti Tween-80. Nilai ODA yang paling luas ditunjukkan oleh konsentrasi inokulum 10% (22,99 cm^2) dibanding inokulum 5% (16,77 cm^2) dan 15% (19,20 cm^2). Pengaruh konsentrasi inokulum terhadap produksi biosurfaktan pada menunjukkan zona penyebaran minyak yang mengindikasikan adanya penurunan tegangan permukaan antara air dan minyak (Cornea *et al.,* 2016). Konsentrasi inokulum berpengaruh terhadap kepadatan bakteri pada medium pertumbuhan yaitu ketika kepadatan sel dalam suatu populasi meningkat maka sel bakteri akan mengaktifkan sistem quorum sensing (QS). Bakteri *P. aeruginosa* memiliki empat sistem QS yaitu Las, Rhl, PQS, dan IQS yang bertanggung jawab untuk mengatur produksi biosurfaktan, yaitu rhamnolipid (J. Lee & Zhang, 2015).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inokulum 10% dapat membentuk ODA yang lebih besar yaitu, 22,99 cm^2 dibandingkan dengan inokulum 5%, yaitu, 16,77 cm^2 dan 15% yaitu, 19,20 cm^2. Hasil pengukuran nilai OD setelah fermentasi selama 120 jam pada konsentrasi 5%, yaitu 2,23±0,17, konsentrasi 10%, yaitu 2,69±0,17, dan konsentrasi 15%, yaitu 2,65±0,18. Pernyataan Sari *et al.,* 2020) bahwa terdapat korelasi antara nilai ODA dengan yield biosurfaktan yang dihasilkan. Akan tetapi, konsentrasi inokulum yang tinggi tidak berbanding lurus dengan produksi biosurfaktan yang dihasilkan karena akan terjadi kompetisi nutrisi sehingga terjadi penurunan metabolisme dari mikroba pada medium pertumbuhan.

Biosurfaktan oleh bakteri *P. aeruginosa* PS-5 dengan PAO sebagai sumber karbon menunjukkan sifat yang cukup baik dalam mengurangi tegangan permukaan yang ditunjukkan oleh nilai ODA (Tabel 1). Skrining dengan metode *spreading test* efektif untuk mengukur aktivitas biosurfaktan terutama pada kuantitas yang tidak tinggi (Morikawa *et al.,* 2000). Aktivitas zona penyebaran minyak (ODA) menunjukkan bahwa bakteri telah menghasilkan biosurfaktan. Hal ini terjadi ketika bagian hidrofobik minyak dan bagian hidrofilik dari biosurfaktan menyatu sehingga menyebabkan tekanan antara bagian tersebut (Satpute *et al.,* 2010). Konsentrasi molekul biosurfaktan di dalam air telah mencapai ambang batas *Critical Micelle Concentration* (CMC) , yaitu konsentrasi kritis molekul amfifatik pada biosurfaktan akan teragregasi dengan bagian hirofilik ke arah luar molekul sedangkan hidrofobiknya menuju kearah dalam sehingga tegangan antar muka menurun dan terbentuknya zona penyebaran minyak (ODA) (Gambar 1).

P. aeruginosa PS-5 yang digunakan pada penelitian ini juga menunjukkan aktivitas biosurfaktan dilihat dari emulsi yang terbentuk pada uji indeks emulsifikasi. Prinsip nilai emulsi yaitu semakin tinggi indeks maka semakin tingi stabilitas yang dihasilkan (Raymundo *et al.,* 2002). Nilai IE_{24} pada penelitian yang telah dilaporkan sebelumnya yang potensial untuk produksi biosurfaktan oleh mikroorganisme adalah lebih dari 50% (Rodríguez *et al.,* 2015). Radzuan *et al.* (2017) menyatakan bahwa produksi

biosurfaktan menggunakan limbah *palm fatty acid distillate* (PFAD) oleh *P. aeruginosa* PAO1 dihasilkan IE_{24} sekitar 30%. Penelitian lainnya juga melaporkan biosurfaktan yang dihasilkan oleh *P. aeruginosa* ATCC 15442 yang difermentasi selama 11 hari pada media MSM dengan penambahan 10% minyak solar sebagai sumber karbon diperoleh nilai IE_{24} 50% (Ikhwani, 2017). Penelitian ini dihasilkan nilai IE_{24} lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya, yaitu 98% yang diproduksi pada media MSM dengan 10% limbah PAO dan penambahan inokulum bakteri *P. aeruginosa* PS-5 konsentrasi inokulum 10%. Formulasi dengan konsentrasi inokulum bakteri *P. aeruginosa* 10% dan PAO 10% menunjukkan hasil yang paling baik pada penelitian ini dengan nilai ODA dan Indeks Emulsifikasi paling tinggi.

PAO ditambahkan dalam produksi biosurfaktan oleh bakteri bertujuan sebagai induser karena bersifat hidrofobik. Biosurfaktan yang dihasilkan akan menurunkan tegangan permukaan dan meningkatan solubilisasi PAO, sehingga senyawa tersebut mudah untuk diakses dan dimanfaatkan bakteri sebagai sumber karbon dan energi dalam proses metabolismenya. Media produksi biosurfaktan yang dilengkapi oleh induser hidrofobik mencapai produksi biosurfaktan lebih tinggi. Penelitian Gudiña *et al.,* (2016) menghasilkan IE_{24} yang lebih tinggi dengan penambahan induser limbah minyak zaitun , yaitu 64% pada 96 jam fermentasi, sedangkan tanpa penambahan induser, yaitu 59% pada 168 jam fermentasi. Zhao *et al.* (2019) juga melakukan studi perbandingan media kultur hidrofilik dan hidrofobik dalam produksi biosurfaktan oleh *P. aeruginosa* bahwa IE_{24} yang dihasilkan oleh media dengan minyak bumi lebih tinggi, yaitu 76,1% dibandingkan dengan glukosa, yaitu 65,5%.

Penggunaan PAO sebagai substrat yang tidak larut dalam air menghasilkan biosurfaktan lebih tinggi dibandingkan dengan substrat yang larut dalam air. Penelitian Radzuan *et al.* (2017) melaporkan bahwa produksi biosurfaktan oleh bakteri *P. aeruginosa* PAO1 pada *palm fatty acid distillate* (PFAD) menghasilkan IE_{24} 30% lebih tinggi dibandingkan glukosa IE_{24} 15%. Penggunaan bakteri *P. aeruginosa* EMS1 juga menunjukkan hasil minyak kedelai sebagai sumber karbon menghasilkan biosurfaktan lebih tinggi dibandingkan glukosa dan gliserol (Cha *et al.,* 2008). Minyak efisien dalam produksi biosurfaktan karena dapat dihidrolisis oleh enzim lipase dari spesies *P. aeruginosa* untuk membentuk asam lemak rantai panjang yang menyusun 12-18 rantai karbon (Maier & Soberoâ N-Chaâ Vez, 2000). Kelebihan minyak sebagai substrat pada produksi biosurfaktan yaitu terhambatnya pembentukan busa karena FFA berperan sebagai *antifoaming agent.* Strain bakteri dan substrat yang digunakan berperan penting dalam produksi biosurfaktan karena berhubungan dengan jalur biosintesis biosurfaktan (Abdel-Mawgoud *et al.*, 2011).

Produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh faktor nutrisi yang terkandung dalam media kultur, seperti karbon dan nitrogen. Sumber nitrogen yang digunakan tergantung pada komposisi media dan mikroorganisme. Penelitian ini menggunakan sumber karbon, yaitu PAO sedangkan sumber nitrogen, yaitu, *yeast extract. Yeast extract* terbukti dapat meningkatkan produksi biosurfaktan karena memiliki kandungan protein, karbohidrat, rantai peptida pendek, asam amino bebas dan asam nukleat. Rasio karbon/nitrogen (C/N) menjadi suatu komponen penting untuk produksi biosurfaktan. Rasio C/N dalam produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas* sp. dalam jumlah maksimum pada rasio C/N 6 hingga 13. Hal ini juga didukung oleh penelitian (Nurfarahin *et al.,* 2019) menyatakan bahwa rasio 6,67 menunjukkan jumlah maksimal biosurfaktan dihasilkan. Penelitian ini perlu dilakukan optimalisasi lebih lanjut untuk

mengetahui rasio C/N yang terbaik dalam produksi biosurfaktan dengan variasi sumber karbon PAO dan nitrogen. Penelitian sebelumnya telah membuktikan bahwa rasio karbon yang tinggi terhadap nitrogen dapat membatasi pertumbuhan bakteri dan merangsang metabolisme sel bakteri untuk produksi metabolit sekunder, seperti biosurfaktan. Hal ini karena bakteri memproduksi biosurfaktan saat terjadi akumulasi lemak pada dinding sel bakteri (Moses & Springhram, 1992). Lemak sebagai hasil metabolisme lanjutan dari karbohidrat yang terjadi ketika kebutuhan nitrogen dalam kondisi terbatas yang digunakan untuk sintesis protein. Bakteri yang menghadapi kondisi ini akan mengkonversi gliserol menjadi rhamnolipid (Nugroho, 2006).

SIMPULAN

Konsentrasi inokulum *P. aeruginosa* PS-5 berpengaruh terhadap produksi biosurfaktan dengan penambahan (PAO) sebagai sumber karbon. Nilai ODA yang paling luas 22,99 cm^2 dan IE_{24} yaitu 98% yang dihasilkan dari konsentrasi inokulum 10%. Penilitian ini belum diketahui jenis biosurfaktannya sehingga perlu dilakukan karakterisasi dan uji potensi untuk bioremediasi.

DAFTAR PUSTAKA

Abdel-Mawgoud, A. M., Hausmann, R., Lépine, F., Müller, M. M., & Déziel, E. (2011). *Rhamnolipids: Detection, Analysis, Biosynthesis, Genetic Regulation, and Bioengineering of Production* (pp. 13–55). https://doi.org/10.1007/978-3-642-14490-5_2

Amraini, Z. S., Muria, S. R., Baharuddin, HS, I., Artha, D., & Susanto, R. (2022). Biosurfactant Production from Pseudomonas aeruginosa ATCC27853 with Carbon Source from Crude Palm Oil for Oil Recovery. *Indonesian Journal Chemical Research*, *10*(1), 47–52. https://doi.org/10.30598//ijcr.2022.10-sai

Cha, M., Lee, N., Kim, M., Kim, M., & Lee, S. (2008). Heterologous Production of Pseudomonas aeruginosa EMS1 Biosurfactant in Pseudomonas putida. *Bioresource Technology*, *99*(7), 2192–2199. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.05.035

Cooper, D. G., Macdonald, C. R., Duff, S. J. B., & Kosaric, N. (1981). Enhanced Production of Surfactin from Bacillus subtilis by Continuous Product Removal and Metal Cation Additions. *Applied and Environtmental Microbiology* , *42*(3), 408–412.

Cornea, C. P., Israel-Roming, F., Sicuia, O., Voaides, C., Voaideş, C., Zamfir, M., & Grosu-Tudor, S.-S. (2016). Biosurfactant Production by Lactobacillus spp. strains Isolated From Romanian Traditional fermented Food Products Biosurfactant Production by Lactobacillus spp. Strains Isolated from Romanian Traditional Fermented Food products. *Romanian Biotechnological Letters*, *21*(2). https://www.researchgate.net/publication/305154580

Desai, J. D., & Banat, I. M. (1997). Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. *Microbiology and Molecular Biology*, *61*(1), 47–64.

Gozan, M., Fatimah, I. N., & Haris, A. (2014). Produksi Biosurfaktan oleh Pseudomonas aeruginosadengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi. *Warta IHP/Journal of Agro-Based Industry*, *31*(2), 39–44.

Gudiña, E. J., Rodrigues, A. I., de Freitas, V., Azevedo, Z., Teixeira, J. A., & Rodrigues, L. R. (2016). Valorization of Agro-industrial Wastes Towards the Production of Rhamnolipids. *Bioresource Technology*, *212*, 144–150. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.027

Ikhwani, A. Z. N. (2017). *Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Pseudomonas aeruginosa dengan Perbedaan pH Media dan Sumber Karbon Minyak Mentah*. Intitut Pertanian Bogor .

Kuntom, A., Slew, W.-L., & Tan, Y.-A. (1994). *Characterization of Palm Acid Oil*.

Lee, K. T., & Ofori-Boateng, C. (n.d.). *Green Energy and Technology Sustainability of Biofuel Production from Oil Palm Biomass*. Retrieved http://www.springer.com/series/8059

Maier, R. M., & Soberoâ N-Chaâ Vez, G. (2000). Pseudomonas aeruginosa Rhamnolipids: Biosynthesis and Potential Applications. *Appl Microbiol Biotechnol* , *1*, 625–633. www.ibt.unam.mx

Morikawa, M., Hirata, Y., & Imanaka, T. (2000). A Study on The Structure Function Relationship of Lipopeptide Biosurfactants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 211–218. www.elsevier.com/locate/bba

Nugroho, A. (2006). Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pengguna Hidrokarbon dengan Penambahan Variasi Sumber Karbon. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *7*(4). https://doi.org/10.13057/biodiv/d070403

Nurfarahin, A. H., Mohamed, M. S., & Phang, L. Y. (2019a). Development of Palm Fatty Acid Distillate-Containing Medium for Biosurfactant Production by Pseudomonas sp. LM19. *Molecules*, *24*(14). https://doi.org/10.3390/molecules24142613

Nurfarahin, A. H., Mohamed, M. S., & Phang, L. Y. (2019b). Development of Palm Fatty Acid Distillate-Containing Medium for Biosurfactant Production by Pseudomonas sp. LM19. *Molecules*, *24*(14), 2613. https://doi.org/10.3390/molecules24142613

Radzuan, M. N., Banat, I. M., & Winterburn, J. (2017). Production and Characterization of Rhamnolipid Using Palm Oil Agricultural Refinery Waste. *Bioresource Technology*, *225*, 99–105. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.11.052

Rahayu, Y. P., & Prasetyo, A. (2020). Uji Aktivitas Bakteri Keratinolitik Sebagai Penghasil Biosurfaktan. *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, *6*(2), 75–80. https://doi.org/10.33772/pharmauho

Raymundo, A., Franco, J. M., Empis, J., & Sousa, I. (2002). Optimization of the Composition of Low-Fat Oil-In-Water Emulsions Stabilized by White Lupin Protein. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *79*(8), 783–790. https://doi.org/10.1007/s11746-002-0559-6

Rodríguez, D. M., Ribeiro, D., Ribeaux, D. R., & Campos Takaki, G. (2015). Bioremediation of Petroleum Derivative Using Biosurfactant Produced by Serratia marcescens UCP/WFCC 1549 in Low-Cost Medium. In *Article in International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* (Vol. 20). http://www.ijcmas.com

Sari, C. N., Hertadi, R., Harahap, A. F. P., Ramadhan, M. Y. A., & Gozan, M. (2020). Process Optimization of Palm Oil Mill Effluent-Based Biosurfactant of Halomonas meridiana BK-AB4 Originated from Bledug Kuwu Mud Volcano in Central Java for Microbial Enhanced Oil Recovery. *Processes*, *8*(6), 716. https://doi.org/10.3390/pr8060716

Sarubbo, L. A., Rocha, R. B., Luna, J. M., Rufino, R. D., Santos, V. A., & Banat, I. M. (2015). Some Aspects of Heavy Metals Contamination Remediation and Role of Biosurfactants. *Chemistry and Ecology*, *31*(8), 707–723. https://doi.org/10.1080/02757540.2015.1095293

Satpute, S. K., Banpurkar, A. G., Dhakephalkar, P. K., Banat, I. M., & Chopade, B. A. (2010, June). Methods for Investigating Biosurfactants and Bioemulsifiers: A review. *Critical Reviews in Biotechnology*, *30*(2), 127–144. https://doi.org/10.3109/07388550903427280

Sitanggang, T. Y. (2023). *Identifikasi Bakteri Pseudomonas spp. Pendegradasi Bahan Organik Dari Air Buangan Hotel Limbah Kota Pontianak Berdasarkan Karakteristik Fenotipik*.

Techaoei, S., Lumyong, S., Prathumpao, W., Santiarwarn, D., & Leelapornpisid, P. (2011). Screening Characterization and Stability of Biosurfactant Produced by Pseudomonas aeruginosa SCMU106 Isolated from Soil Northern Thailand. *Asian Journal of Biological Sciences* , *4*(4), 340–351.

Wayan, R. W. I., Andarwulan, N., & Haryati, T. (2012). Optimasi Proses Deasidifikasi dalam Pemurnian Minyak Sawit Merah Skala Pilot Plant. *Hasil Penelitian J. Teknol. Dan Industri Pangan*, *23*(1).

Wibisana, A., Bioteknologi, B., Serpong, K. P., & Selatan, T. (2018). Isolasi dan Skrining Mikroba Penghasil Biosurfaktan dari Air Laut yang Tercemar. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia UNPAM*, *2*(2).

Zhao, F., Han, S., & Zhang, Y. (2019). Comparative Studies on The Structural Composition, Surface/Interface Activity and Application Potential of rhamnolipids Produced by Pseudomonas aeruginosa using Hydrophobic or Hydrophilic substrates. *Bioresource Technology*, *295*. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122269