

**KARAKTERISASI BIOSURFAKTAN DARI ISOLAT BAKTERI  
LAUT PENDEGRADASI HIDROKARBON PETROLEUM  
ASAL SEDIMEN PELABUHAN PAOTERE**

*BIOSURFACTANT CHARACTERIZATION OF MARINE  
PETROLEUM-DEGRADING BACTERIA  
FROM PAOTERE PORT SEDIMENT*

**RIUH WARDHANI**



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**KARAKTERISASI BIOSURFAKTAN DARI ISOLAT BAKTERI  
LAUT PENDEGRADASI HIDROKARBON PETROLEUM  
ASAL SEDIMEN PELABUHAN PAOTERE**

*BIOSURFACTANT CHARACTERIZATION OF MARINE  
PETROLEUM-DEGRADING BACTERIA  
FROM PAOTERE PORT SEDIMENT*

**RIUH WARDHANI**



**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**KARAKTERISASI BIOSURFAKTAN DARI ISOLAT BAKTERI  
LAUT PENDEGRADASI HIDROKARBON PETROLEUM  
ASAL SEDIMEN PELABUHAN PAOTERE**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi Biologi

Disusun dan Diajukan Oleh

RIUH WARDHANI  
H05202003

**PROGRAM MAGISTER BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2022**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

KARAKTERISASI BIOSURFAKTAN DARI ISOLAT BAKTERI LAUT  
PENDEGRADASI HIDROKARBON PETROLEUM ASAL SEDIMEN  
PELABUHAN PAOTERE

RIUH WARDHANI

NIM: H052202003

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Magister Program Biologi Fakultas  
Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
Pada Tanggal 01 Agustus 2022  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama

Prof. Dr. Dirayah R Husain, DEA  
NIP: 196005251986012001

Pembimbing Pendamping

Dr. Arpung, M.Si  
NIP: 196507041992031004

Ketua Program Studi  
Biologi S2

Dr. Julriah, M.Si.  
NIP: 196312311988102001

Dekan Fakultas MIPA  
Universitas Hasanuddin

Dr. Eng. Amiruddin, S.Si., M.Si  
NIP: 197205151997021002

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Karakterisasi Biosurfaktan dari Isolat Bakteri Laut Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum Asal Sedimen Pelabuhan Paotere" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Prof. Dr. Dirayah R. Husain, DEA sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Ambeng, M.Si sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan dengan judul *Reduction of Surface Tension of Petroleum Using Hydrocarbon Degrading Bacterial Activity* di Jurnal ASM Science Journal, Volume 17, dan DOI <https://doi.org/10.32802/asmscj.2022.1273>.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 01 Agustus 2022



RIUH WARDHANI  
H052202003

## UCAPAN TERIMA KASIH

*Assalamu 'alaikum Wr. Wb.*

*Om swastyastu.*

*Salam sejahtera buat kita semua.*

Segala puji dan syukur penulis panjatkan panjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa, karena hanya dengan hidayah dan berkah-Nya yang selalu diberikan kepada hambanya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul "Karakterisasi Biosurfaktan dari Isolat Bakteri Laut Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum Asal Sedimen Pelabuhan Paotere". Tesis ini merupakan salah satu syarat dalam menyelesaikan program pendidikan Magister (S2) di Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin Makassar.

Tanpa bantuan, motivasi, dan doa dari berbagai pihak, penulis tidak dapat menyelesaikan tesis ini dengan sebaik-baiknya. Terima kasih tidak terhingga kepada orang tua atas konsistensinya dalam membimbing dan membesarkan penulis, terima kasih kepada Nenek tercinta Imajja, Ayah Usman dan Ibu Imappe, semoga jerih payahmu mampu penulis teruskan dengan kesuksesan. Terima kasih juga kepada saudara penulis yaitu Ary Wardhana, Rui Lopes, Nela Iphawani, dan Isti Delima Sari yang tidak henti-hentinya mendukung dan menyemangati penulis, doa terbaik untuk kalian. Terkhusus kepada Almarhum Paman dan Tante yang juga telah menjadi orang tua penulis yaitu Paturusi dan Sutra, terima kasih atas motivasi dan bimbingannya sehingga penulis dapat tumbuh besar seperti sekarang ini. Penulis yakin beliau telah berada ditempat terbaik disisi Tuhan Yang Maha Esa.

Terima kasih yang sedalam-dalamnya kepada Prof. Dr. Dirayah R. Husain, DEA selaku ketua komisi penasihat atas bimbingan, arahan, waktu, dan kesabaran yang telah diberikan kepada penulis sejak penulis memulai studi sampai penyusunan tesis ini, terima kasih atas segala motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S-2 Biologi dengan baik dan lancar. Terima kasih kepada anggota komisi penasihat Dr. Ambeng,

M.Si atas segala bantuan yang bapak berikan, baik berupa kritik, saran, waktu, pikiran, maupun motivasi yang membantu penulis selama proses penulisan tesis ini sampai selesai.

Penulis juga mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Dr. Eng. Amiruddin, S.Si., M.Si selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin beserta seluruh staf yang telah membantu penulis dalam hal akademik dan administrasi.
2. Ibu Dr. Juhriah, M.Si. selaku ketua Prodi Magister Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, terima kasih atas ilmu, masukan serta saran kepada penulis.
3. Ibu Dr. Irma Andriani, M.Si., Dr. Magdalena Litaay, M.Sc, dan Bapak Dr. Sulfahri, M.Si selaku anggota panitia seminar dan ujian akhir Magister. Kepada seluruh Dosen Prodi Magister Biologi yang telah membimbing dan memberikan ilmunya dengan tulus dan sabar kepada penulis selama proses perkuliahan. Kepada staf pegawai Prodi Magister Biologi dan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu penulis baik dalam menyelesaikan administrasi maupun memberikan dukungan kepada penulis selama ini.
4. Pembimbing asisten riset Dr. Ade Chandra Iwansyah, M.Sc serta teman-teman asisten riset dan magang MBKM di Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan (PRTPP BRIN) Gunung Kidul, Yogyakarta, Mas I Nyoman Guna Darma, Nabila Salsabila Debia, Feni Melinda, Rilwan Efendi, Evan Adrian, Vio Awan Nur Hidayat, dan teman-teman lain yang tidak sempat saya sebutkan satu per satu. Terima kasih atas bimbingan dan motivasinya hingga penyusunan naskah tesis ini selesai pada waktu yang tepat.
5. Kak Fuad Gani S.Si, Kak Nenis Sardiani S.Si, dan Kak Heriyadi, S.Si., M.Si yang telah banyak memberi bantuan terhadap penelitian ini, baik berupa ilmu, kritik, dan saran yang sangat berharga bagi penulis.

6. Teman-teman Prodi Magister Biologi Angkatan 2020 (Nur Istiqamah, Meitin Pabongi, Andi Annisa dan Nurhidayah), terima kasih atas kerja sama dan motivasinya selama ini, semoga kesuksesan menghampiri kita semua.
7. Teman-teman Umxct “VIII.1 SMANSA SIDRAP”, Heriyanto, Alwi, Wahyuddin, Hendrawan, Andi Mustika, Sry Hardiyanti, Nuraini, Sarah, Sri Yustika, Dirayanti, Nadila, dan teman-teman lain yang tidak sempat saya sebutkan satu per satu, terima kasih atas konsistensinya dalam mendukung dan setia menemani penulis.

Pada akhirnya saya berterima kasih kepada semua pihak yang telah berkontribusi hingga karya tulis ini terselesaikan. Terima kasih yang sebesar-besarnya. Semoga Tuhan memberkati kita semua, Amin.

Makassar, 01 Agustus 2022



Rih Wardhani



## ABSTRAK

RIUH WARDHANI. **Karakterisasi Biosurfaktan dari Isolat Bakteri Laut Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum Asal Sedimen Pelabuhan Paotere** (dibimbing oleh Dirayah R Husain dan Ambeng).

Peranan biosurfaktan dalam proses biodegradasi senyawa tercemar terutama senyawa hidrokarbon sangatlah signifikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi jenis biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon (BPH) terkait kemampuannya dalam proses emulsifikasi, *oil spread* dan menurunkan tegangan permukaan air. Isolasi BPH dilakukan di Pelabuhan Paotere, Makassar, Indonesia. Sampel sedimen ditumbuhkan pada media Air Laut Sintetik (ALS) dengan penambahan hidrokarbon petroleum. Isolat bakteri yang didapatkan kemudian dikarakterisasi melalui pengecatan gram serta pengamatan morfologi koloni dan selanjutnya dilakukan pengukuran kurva pertumbuhan untuk mengetahui fase pertumbuhan bakteri. Kemampuan isolat dalam mendegradasi hidrokarbon petroleum diketahui melalui pengamatan visual. Kemampuan BPH dalam menghasilkan biosurfaktan dievaluasi menggunakan metode *oil spread*/uji penyebaran minyak, emulsifikasi, dan penurunan tegangan permukaan. Terakhir dilakukan analisa senyawa dengan menggunakan *Fourier transform infrared* (FTIR) *spectrophotometers* schimadzu dan *Gas chromatography-mass spectrometry* (GCMS) untuk mengetahui jenis senyawa biosurfaktan yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa BPH A dan BPH B dapat menghasilkan senyawa biosurfaktan yang memiliki aktivitas emulsifikasi air dan minyak sebesar 31,7% dan 25%. Uji *oil spread* menunjukkan diameter zona bening yang terlihat pada lapisan minyak dan didukung oleh hasil uji tegangan permukaan air dengan nilai penurunan 31,2 mN/m pada isolat BPH A dan 26,8 mN/m pada BPH B. Biosurfaktan yang dihasilkan kedua bakteri tergolong jenis lipopeptida yang berpotensi sebagai agen bioremediasi lingkungan tercemar.

Kata kunci: biosurfaktan, emulsifikasi, tegangan permukaan, bakteri laut

## ABSTRACT

RIUH WARDHANI. ***BIOSURFACTANT CHARACTERIZATION OF MARINE PETROLEUM-DEGRADING BACTERIA FROM PAOTERE PORT SEDIMENT*** (supervised by Dirayah R Husain and Ambeng).

The role of biosurfactants in the biodegradation processes of pollutants especially hydrocarbon compounds is very significant. This study aims to characterize the biosurfactants produced by hydrocarbon-degrading bacteria (BPH) related to their ability to emulsify, spread oil, and reduce the surface tension of water. Bacterial isolation was carried out at Paotere Port, Makassar, Indonesia. Sediment samples were grown on artificial seawater (ALS) medium with the addition of petroleum hydrocarbons. The bacterial isolates obtained were then characterized by gram staining and morphological colony. The growth curve was measured to determine the growth phase of the bacteria. The capability of isolates to degrade petroleum hydrocarbons was known through visual observation. The ability of BPH to produce biosurfactants was evaluated using the oil spread method, emulsification, and surface tension reduction. Finally, biosurfactant analysis was carried out using Fourier transform infrared (FTIR) schimadzu spectrophotometers and gas chromatography-mass spectrometry (GCMS) to determine the type of biosurfactant. The results showed that BPH A and BPH B could produce biosurfactant compounds that had water and oil emulsification activities of 31.7% and 25%, respectively. The oil spread test showed the diameter of the clear zone on the oil layer and them was supported by the results of water surface tension with a decreasing value of 31.2 mN/m in BPH A isolates and 26.8 mN/m in BPH B. Biosurfactants produced by both isolates are classified as lipopeptides and have the potential as bioremediation agents in polluted environments.

Keywords: biosurfactant, emulsification, surface tension, marine bacteria

## DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGAJUAN.....	iii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA .....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT .....	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
2.1 Pencemaran Senyawa Berbahaya.....	5
2.2 Hidrokarbon Minyak Bumi.....	7
2.3 Pencemaran Hidrokarbon Minyak Bumi.....	11
2.4 Degradasi Minyak Bumi setelah Tumpahan Minyak Laut.....	12
2.5 Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi .....	14
2.6 Biosurfaktan .....	18
2.6.1 Glikolipid .....	20
2.6.2 Lipopeptides dan Lipoproteins .....	23
2.6.3 Asam lemak, fosfolipid dan lipid netral .....	24
2.6.4 Biosurfaktan Polimer .....	24
2.6.5 Biosurfaktan Partikulat .....	26
2.7 TENSIO AKTIF .....	26
BAB III METODE PENELITIAN.....	29
3.1 Waktu dan Tempat .....	29

3.2 Alat dan Bahan .....	29
3.3 Prosedur Penelitian .....	29
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	29
3.3.2 Penyiapan Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum...30	
3.3.3 Pemurnian Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum....30	
3.3.4 Karakterisasi Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum 30	
3.3.5 Pengukuran Kurva Pertumbuhan .....	31
3.3.6 Uji Biodegradasi secara In-Vitro.....	31
3.3.7 Ekstraksi senyawa Biosurfaktan.....	31
3.3.8 Uji Oil Spreading (Uji sebaran Minyak).....	31
3.3.9 Uji Emulsifikasi.....	32
3.3.10 Analisa senyawa Biosurfaktan .....	32
3.3.11 Uji Tegangan Permukaan (Tensio Aktif).....	33
3.4 Pengumpulan dan Analisis Data .....	33
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	35
4.1 Isolasi Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum .....	35
4.2 Pemurnian Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum ..36	
4.3 Karakterisasi Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum .....	38
4.4 Pengukuran Kurva Pertumbuhan.....	40
4.5 Uji Biodegradasi secara In-Vitro .....	42
4.6 Uji Emulsifikasi dan Oil Spreading .....	45
4.7 Uji Tegangan Permukaan (Tensio Aktif) .....	47
4.8 Ekstraksi dan Analisa senyawa Biosurfaktan menggunakan FTIR.49	
4.9 Analisa senyawa Biosurfaktan menggunakan GC-MS .....	52
BAB V PENUTUP .....	56
5.1 Kesimpulan.....	56
5.2 Saran.....	56
DAFTAR PUSTAKA.....	57
LAMPIRAN .....	66

## DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Koloni Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon .....	40
Tabel 2. Penurunan Tegangan Permukaan .....	48
Tabel 3. Profil senyawa GCMS BPH A .....	52
Tabel 4. Profil senyawa GCMS BPH B .....	52
Tabel 5. Biosurfaktan dari Berbagai Mikroorganisme .....	54
Tabel 6. Kurva Pertumbuhan BPH.....	40
Tabel 7. Hasil Uji Emulsifikasi .....	4871
Tabel 8. Hasil Uji Tegangan Permukaan.....	52
Tabel 9. Hasil GC-MS BPH A .....	52
Tabel 10. Hasil GC-MS BPH B .....	86

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme Biodegradasi Mikroorganisme .....	7
Gambar 2. Struktur Minyak Bumi.....	9
Gambar 3. Struktur Rhamnolipid (Desai dan Banat, 1997) .....	21
Gambar 4. Struktur Trehalolipid (Desai dan Banat, 1997) .....	21
Gambar 5. Struktur Sophorolipid (Desai dan Banat, 1997) .....	22
Gambar 6. Diagram Alir Penelitian .....	34
Gambar 7. Wilayah Sampling di Pelabuhan Paotere .....	36
Gambar 8. Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon .....	37
Gambar 9. Morfologi Sel Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon .....	38
Gambar 10. Kurva Pertumbuhan BPH A .....	41
Gambar 11. Kurva Pertumbuhan BPH B .....	42
Gambar 12. Sebelum dan Sesudah Proses Biodegradasi .....	44
Gambar 13. Uji Oil spread Biosurfaktan BPH A (kiri) dan BPH B (Kanan) .....	46
Gambar 14. Vibrasi FTIR Biosurfaktan Isolat BPH A .....	49
Gambar 15. Vibrasi FTIR Biosurfaktan Isolat BPH B .....	50
Gambar 16. Lokasi Pengambilan Sampel .....	41
Gambar 17. Sampel Sedimen .....	6642
Gambar 18. Nutrisi tambahan media ALS BPH .....	44
Gambar 19. Isolasi BPH .....	6746
Gambar 20. Pemurnian BPH .....	49
Gambar 21. Dokumentasi Pengerjaan .....	50
Gambar 22. Pengecatan Gram .....	50
Gambar 23. Morfologi Koloni .....	418
Gambar 24. Preparasi Uji Biodegradasi secara in-vitro .....	6429
Gambar 25. Sebelum Proses Biodegradasi secara in-vitro .....	44
Gambar 26. Setelah Proses Biodegradasi secara in-vitro .....	7046
Gambar 27. Uji Oil spread sebelum (kiri) dan sesudah (kanan) penambahan Biosurfaktan Isolat BPH A .....	490
Gambar 28. Uji Oil spread sebelum (kiri) dan sesudah (kanan) penambahan Biosurfaktan Isolat BPH B .....	500
Gambar 29. Uji Oil spread sebelum (kiri) dan sesudah (kanan) penambahan aquades sebagai kontrol .....	501
Gambar 30. Tensiometer Du Novy .....	50
Gambar 31. Preparasi Uji Biodegradasi secara in-vitro .....	4273
Gambar 32. Sebelum Proses Biodegradasi secara in-vitro .....	44

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Isolasi dan Pemurnian Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon...	66
Lampiran 2. Karakterisasi Isolat Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon Petroleum.....	68
Lampiran 3. Kurva Pertumbuhan dan Uji Biodegradasi Petroleum oleh Bakteri Pendegradasi Hidrokarbon.....	68
Lampiran 4. Analisa Penurunan Tegangan Permukaan .....	70
Lampiran 5. Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa.....	73

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Aktivitas pengangkutan dan pengeboran minyak bumi melibatkan peranan dan keberadaan petroleum/minyak bumi dalam jumlah besar baik yang digunakan langsung sebagai bahan bakar kapal maupun untuk kepentingan distribusi dan aktivitas pengeboran. Dalam perjalanannya seringkali tumpahan minyak secara tidak sengaja terjadi dan mencemari lingkungan perairan. Sebutlah fenomena di teluk meksiko pada 2010 lalu yang menyebabkan 200 juta galon (680.000 ton) minyak mencemari perairan tersebut dan menyebabkan pengurangan jumlah makhluk hidup yang signifikan (D'andrea dan Reddy, 2014).

Tumpahan minyak mempengaruhi organisme laut dengan berbagai cara, termasuk menyebabkan kematian baik organisme invertebrata seperti moluska dan vertebrata seperti ikan (Blackburn et al., 2014; Fodrie et al., 2014), membunuh atau menyebabkan kerusakan pada telur dan larva ikan misalnya, kelainan bentuk morfologi, gangguan pertumbuhan, meningkatkan kerentanan terhadap predator (Sørhus et al., 2016), degradasi habitat, persentase penetasan telur berkurang, kerusakan struktur insang, gangguan reproduksi, pertumbuhan, dan perkembangan serta gangguan proses respirasi (Blackburn et al., 2014).

Fenomena ini sejak dulu terjadi diberbagai belahan bumi, demikian pula penelitian dan pengembangan metode untuk meminimalisir dan mengeliminasi dampak kehadiran petroleum/minyak bumi di lingkungan senantiasa dilakukan terutama di negara-negara yang sangat bergantung pada sumber energi ini. Fenomena lain dari proses eliminasi dari petroleum/minyak bumi yang sesungguhnya mengandung berbagai macam hidrokarbon baik alkana maupun aromatik yang masing-masing dapat bersifat iritan dan karsinogen bagi makhluk hidup. Metode eliminasi hidrokarbon tersebut dapat dilakukan secara fisik, kimiawi, dan biologis.



Dilain pihak, metode biologis dianggap lebih aman karena memanfaatkan mikroorganisme sebagai agen biologis yang dapat mengubah hidrokarbon menjadi senyawa yang lebih sederhana yang disebut biodegradasi. Proses biodegradasi dengan memanfaatkan mikroorganisme banyak dimanfaatkan dalam teknologi bioremediasi. Kemampuan biodegradasi mikroba sekarang secara bertahap mendapatkan perhatian global sebagai metode yang potensial, ramah lingkungan dan ekonomis untuk mendekontaminasi/mendetoksifikasi lingkungan yang tercemar (Mohapatra et al., 2019). *Adherence*, emulsifikasi, dan solubilisasi adalah 3 mekanisme utama bakteri dalam proses biodegradasi hidrokarbon (Husain et al., 1997).

Dalam proses biodegradasi hidrokarbon yang terkandung dalam petroleum/minyak bumi atau hidrokarbon yang bercampur dengan senyawa lain dalam bentuk limbah umumnya melibatkan peranan bakteri. Proses biodegradasi oleh bakteri ditemukan oleh para ahli ternyata dapat menghasilkan senyawa baru yaitu berupa biosurfaktan secara simultan (Atlas, 1981). Biosurfaktan memainkan peran penting dalam bioremediasi tumpahan minyak pada lingkungan perairan dengan cara meningkatkan kelarutan komponen petroleum (emulsifikasi) dan secara efektif mengurangi tegangan antarmuka minyak dan air. Proses biodegradasi secara intraseluler diawali dengan kontak antara bakteri dengan hidrokarbon petroleum. Kontak tersebut difasilitasi oleh biosurfaktan dengan menurunkan tegangan permukaan minyak dan air serta meningkatkan kelarutan petroleum sehingga akses untuk menempel dengan bakteri lebih luas.

Berbagai penelitian telah mengungkapkan kemampuan biodegradasi bakteri dan kemampuannya dalam menghasilkan biosurfaktan terutama pada wilayah perairan laut subtropis sedangkan penelitian yang dilakukan dari isolat perairan tropis (Indonesia khususnya sulawesi selatan) masih minim. Penting sekali dilakukan penelitian terkait penggunaan isolat bakteri yang berasal dari perairan tropis (Indonesia khususnya sulawesi selatan) untuk memahami berbagai aspek penting yang berperanan

didalam meningkatkan efektivitas proses biodegradasi, termasuk kualitas biosurfaktan. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi kualitas biosurfaktan dari isolat perairan tercemar minyak di pelabuhan Paotere, Makassar, Indonesia.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh penambahan biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon secara simultan dalam proses emulsifikasi hidrokarbon petroleum ?
2. Bagaimana pengaruh penambahan biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon secara simultan dalam menurunkan tegangan permukaan ?
3. Senyawa apa yang diproduksi oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon ?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk menganalisis pengaruh penambahan biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon secara simultan dalam proses emulsifikasi hidrokarbon petroleum
2. Untuk menganalisis pengaruh penambahan biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri pendegradasi hidrokarbon secara simultan dalam menurunkan tegangan permukaan
3. Untuk mengetahui jenis senyawa biosurfaktan yang dihasilkan bakteri pendegradasi hidrokarbon.

## **1.4 Kegunaan Penelitian**

Kegunaan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Diketuainya keberadaan dan aktivitas senyawa yang bersifat pengemulsi dan tensioaktif selama terjadinya proses biodegradasi hidrokarbon petroleum
2. Diketuainya jenis senyawa senyawa pengemulsi biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri selama proses biodegradasi
3. Dapat digunakan sebagai sumber informasi ilmiah pada penelitian-penelitian terkait, khususnya eksplorasi pemanfaatan mikroorganisme sebagai agen bioremediasi lingkungan.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Pencemaran Senyawa Berbahaya**

Dalam beberapa dekade terakhir, senyawa organik yang sangat beracun telah disintesis dan dilepaskan ke lingkungan untuk aplikasi langsung ataupun tidak langsung dalam jangka waktu yang lama. Bahan bakar minyak, polychlorinated biphenyls (PCBs), polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) serta pestisida adalah beberapa dari jenis senyawa ini. Beberapa bahan kimia sintetik lainnya seperti *radionuclides* dan logam sangat sulit mengalami biodegradasi dibandingkan dengan senyawa organik yang secara alami mudah terdegradasi setelah masuk ke lingkungan. Beberapa senyawa berbahaya tersebut diantaranya hidrokarbon berupa hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH), polychlorinated biphenyls (PCBs), pestisida, warna, dan logam berat (Tahri et al., 2013).

Hidrokarbon adalah senyawa organik yang strukturnya terdiri dari hidrogen dan karbon. Hidrokarbon diketahui sebagai senyawa yang berikatan secara linier, bercabang atau siklik. Hidrokarbon terdiri atas golongan aromatik atau alifatik, hidrokarbon aromatik memiliki struktur benzena (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>), sedangkan yang alifatik terdiri atas tiga bentuk, yaitu alkana, alkena, dan alkuna (NCERT, 2020).

Hidrokarbon aromatik polisiklik (PAH) merupakan golongan polutan dari kontaminan organik hidrofobik (HOC) yang banyak ditemukan di tanah dan sedimen. Sumber utama pencemaran PAH adalah produk industri. PAH dapat diserap ke tanah dan sedimen yang kaya senyawa organik, terakumulasi dalam tubuh ikan dan organisme air lainnya yang pada akhirnya dapat ditransfer ke manusia melalui konsumsi makanan laut. Biodegradasi PAH di satu sisi dapat dianggap sebagai bagian dari proses normal siklus karbon, dan di sisi lain sebagai penghilangan polutan buatan manusia dari lingkungan. Penggunaan mikroorganisme untuk bioremediasi

lingkungan yang terkontaminasi PAH tampaknya menjadi bioteknologi yang menarik untuk remediasi yang tercemar (NCERT, 2020).

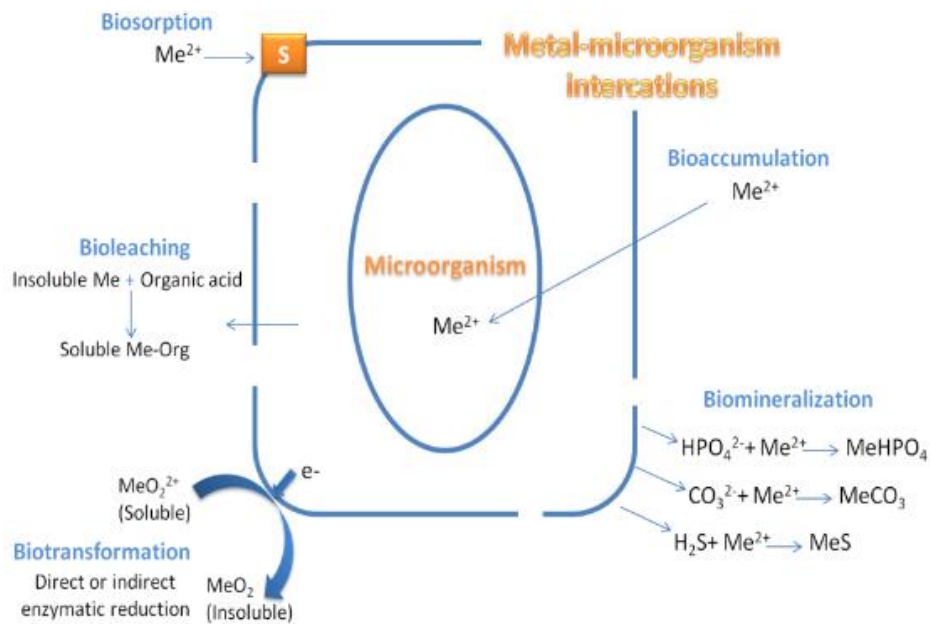
Polychlorinated biphenyls (PCBs) adalah campuran bahan kimia organik sintetis yang tidak mudah terbakar, mempunyai stabilitas kimiawi, dan titik didihnya tinggi. PCB digunakan pada berbagai industri dan produk komersial termasuk peralatan listrik, sebagai pemlastis pada cat, plastik, produk karet, pigmen, pewarna, dan banyak aplikasi industri lainnya. Akibatnya, PCB adalah senyawa beracun yang berbahaya bagi makhluk hidup (EPA, 2016).

Pestisida adalah zat atau campuran zat yang dimaksudkan untuk mencegah, menghancurkan, mengusir atau mengurangi hama apa pun. Pestisida yang terdegradasi dengan cepat disebut pestisida non persisten sedangkan yang tahan degradasi disebut persisten. Agen degradasi yang paling umum dilakukan di dalam tanah oleh mikroorganisme terutama melibatkan jamur dan bakteri yang menggunakan pestisida sebagai sumber makanan (Tahri et al., 2013).

Warna banyak digunakan dalam industri tekstil, produk karet, kertas, percetakan, fotografi warna, farmasi, kosmetik dan banyak industri lainnya. Pewarna azo, yang merupakan senyawa aromatik dengan satu atau lebih gugus ( $-N=N-$ ) adalah kelas pewarna sintetis yang paling penting dan terbesar yang digunakan dalam aplikasi komersial. Pewarna ini sulit terdegradasi karena strukturnya, pengolahan air limbah yang mengandung pewarna biasanya melibatkan metode fisik atau kimia seperti adsorpsi, koagulasi-flokulasi, oksidasi, filtrasi dan metode elektrokimia. Keberhasilan proses biologis untuk menghilangkan warna dari limbah yang diberikan sebagian bergantung pada pemanfaatan mikroorganisme yang secara efektif dapat menghilangkan warna pewarna sintetis (Tahri et al., 2013; Ahmed dan El-Shishtawy, 2010).

Logam berat tidak seperti kontaminan organik, logam tidak dapat dihancurkan, tetapi harus diubah menjadi bentuk yang stabil atau dihilangkan. Bioremediasi logam dapat terjadi melalui proses biotransformasi. Mekanisme kerja mikroorganisme pada logam berat

termasuk biosorpsi (penyerapan logam ke permukaan sel dengan mekanisme fisikokimia), bioleaching (mobilisasi logam berat melalui ekskresi asam organik atau reaksi metilasi), biomineralisasi (imobilisasi logam berat melalui pembentukan sulfida atau kompleks polimer yang tidak dapat larut), akumulasi intraseluler, dan transformasi enzim-katalis (reaksi redoks). Mekanisme biodegradasi mikroba terhadap logam berat dapat dilihat pada gambar dibawah (Tahri et al., 2013).



**Gambar 1.** Mekanisme Biodegradasi Mikroorganism

## 2.2 Hidrokarbon Minyak Bumi

Istilah minyak bumi atau petroleum digunakan untuk menggambarkan berbagai macam hidrokarbon yang berbentuk gas atau cairan. Dua bentuk paling umum adalah gas alam dan minyak mentah. Minyak bumi terdiri dari campuran kompleks berbagai hidrokarbon, sebagian besar terdiri dari alkana dan senyawa aromatik. Warnanya berkisar dari kuning pucat hingga merah dan coklat hingga hitam atau kehijauan, sedangkan dengan pantulan cahaya, dapat berwarna rona hijau (Chougle dan Walke, 2019).

Minyak bumi disebut bahan bakar fosil karena terbentuk dari tubuh organisme purba terutama tumbuhan dan hewan bersel satu. Ketika

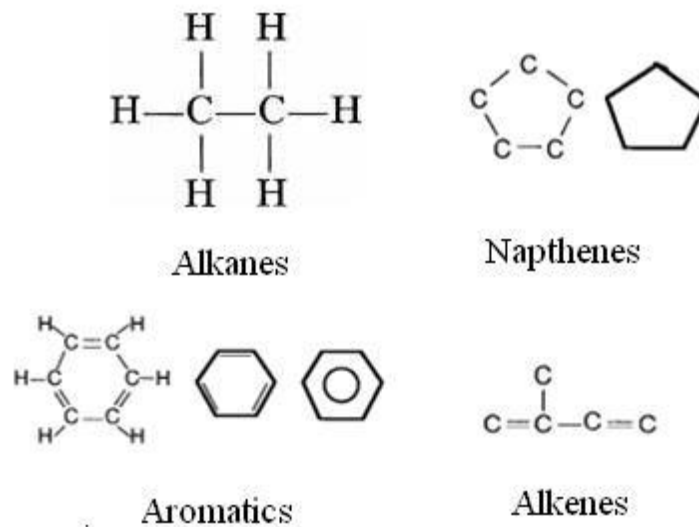
mahluk-mahluk ini mati, sisa-sisa bahan organik mereka terakumulasi di dasar danau atau laut purba, bersama dengan pasir dan sedimen lainnya. Seiring waktu, kombinasi tekanan, panas, dan aktivitas bakteri mengubah endapan menjadi batuan sedimen. Bahan organik diubah menjadi bahan kimia yang lebih sederhana, seperti hidrokarbon, air, karbondioksida, hidrogen sulfida, dan lain-lain (Hsu dan Robinson, 2012).

Karena asalnya, minyak bumi merupakan campuran kompleks yang mengandung ribuan hidrokarbon berbeda. Sesuai dengan namanya, hidrokarbon merupakan bahan kimia yang mengandung hidrogen dan karbon. Selain hidrogen dan karbon, kebanyakan minyak bumi juga mengandung belerang dan sejumlah kecil nitrogen, oksigen, logam, dan garam (Hsu dan Robinson, 2012).

Ada tiga kelas utama hidrokarbon, ini didasarkan pada jenis ikatan karbon penyusunnya. Kelas-kelas ini adalah (Kolmetz, 2016):

1. Hidrokarbon jenuh, mengandung ikatan karbon-karbon tunggal. Mereka dikenal sebagai parafin (atau alkana) jika bersifat asiklik, atau naftena (atau sikloalkana) jika bersifat siklik.
2. Hidrokarbon tak jenuh, mengandung banyak ikatan karbon-karbon (ganda, rangkap tiga atau keduanya). Bersifat tidak jenuh karena mengandung lebih sedikit hidrogen per karbon daripada parafin. Hidrokarbon tak jenuh dikenal sebagai olefin. Yang mengandung ikatan rangkap karbon-karbon disebut alkena, sedangkan yang memiliki ikatan rangkap tiga karbon-karbon disebut alkuna.
3. Hidrokarbon aromatik adalah golongan khusus senyawa siklik yang strukturnya terkait dengan benzena.

Hidrokarbon secara alami terbentuk dalam formasi geologi di bawah permukaan bumi. Hidrokarbon yang terkandung dalam minyak mentah juga dikategorikan berdasarkan komposisi molekulnya sebagai alkana, naftena, aromatik, dan alkena (Scholz et al., 1999).



**Gambar 2.** Struktur Minyak Bumi

#### Alkana

Alkana juga disebut hidrokarbon Parafin atau Jenuh, dengan rumus kimia  $\text{C}_n\text{H}_{(2n+2)}$ . Alkana dicirikan oleh rantai atom karbon bercabang atau tidak bercabang dengan atom hidrogen terikat dan hanya mengandung ikatan karbon-karbon tunggal tanpa ikatan rangkap dua atau rangkap tiga antara atom karbon.

#### Napthenes

Napthenes juga disebut Sikloalkana, dengan rumus kimia  $\text{C}_n\text{H}_{2n}$ . Naftena mirip dengan alkana, tetapi dicirikan oleh adanya satu atau lebih cincin atom karbon dalam struktur kimianya. Napthenes umumnya stabil dan relatif tidak larut dalam air.

#### Aromatik

Aromatik adalah hidrokarbon yang mengandung ikatan rangkap dan tunggal bolak-balik antara atom karbon. Mereka dikenal sebagai komponen minyak mentah yang paling beracun, dan juga terkait dengan efek karsinogenik. Banyak aromatik berbobot rendah larut dalam air, meningkatkan potensi paparan pada sumber air. Istilah 'aromatik' diciptakan sebelum mekanisme fisik yang menentukan aromatik dan berasal dari fakta bahwa banyak senyawa dari kelompok ini memiliki aroma manis. Mereka terkenal dengan jumlah cincin, yang berkisar dari satu hingga enam.



Aromatik dengan dua atau lebih cincin dikenal sebagai hidrokarbon aromatik polisiklik.

### Alkenes

Alkena juga disebut Olefin atau Isoparafin, dengan rumus kimia  $C_nH_{(2n-2)}$ . Alkena dicirikan oleh rantai atom karbon bercabang atau tidak bercabang, mirip dengan alkana, tidak termasuk atom karbon ikatan rangkap. Senyawa aromatik sering digambarkan sebagai alkena siklik, tetapi struktur dan sifatnya berbeda dan tidak dianggap sebagai alkena. Alkena umumnya tidak ditemukan dalam minyak mentah, tetapi umum dalam produk olahan, seperti bensin.

Minyak bumi lebih lanjut dikategorikan menjadi tiga kelompok besar berdasarkan berat molekulnya yaitu rendah, sedang, dan tinggi (Scholz et. al., 1999). Minyak bumi terdiri dari berbagai kombinasi ketiga kategori tersebut dengan ciri-ciri umum sebagai berikut:

#### Komponen dengan Berat Molekul Rendah

Tersusun atas atom karbon yang berkisar dari  $C_1$  hingga  $C_{10}$  yang merupakan molekul yang lebih kecil dengan jumlah atom yang sedikit. Mereka dicirikan oleh volatilitasnya yang tinggi, mudah larut serta menguap dan meninggalkan sedikit atau tidak ada residu penguapan karena waktu tinggal yang singkat. Komponen ini sangat mudah terbakar dan mudah terhirup, dan oleh karena itu menjadi perhatian bagi kesehatan dan keselamatan manusia.

#### Komponen dengan Berat Molekul Sedang

Terdiri atas atom karbon mulai dari  $C_{11}$  hingga  $C_{22}$  yang memiliki molekul kompleks. Komponen ini memiliki tingkat penguapan yang rendah dan sangat sulit larut hingga dapat memakan waktu beberapa hari dengan beberapa residu yang tersisa. Rute paparan utamanya adalah sistem pernapasan dan mudah diserap melalui kulit.

#### Komponen dengan Berat Molekul Tinggi

Ini adalah komponen yang atom karbonnya lebih dari  $C_{23}$  dan tidak mudah menguap. Dapat menyebabkan efek kronis melalui kontaminasi

sebagai residu di kolom air dan sedimen. Beberapa senyawa pada golongan ini bersifat karsinogen yang diserap melalui kulit.

### **2.3 Pencemaran Hidrokarbon Minyak Bumi**

Penelitian terhadap dampak/kerusakan yang disebabkan oleh pencemaran minyak bumi terhadap lingkungan ekologi telah banyak dikaji. Misalnya, peristiwa tumpahan minyak *Deep Water Horizon* di Teluk Meksiko memberikan dampak yang sangat besar terhadap ekonomi dan kondisi lingkungan (Xue et al., 2015). Tumpahan minyak menyebabkan kematian baik organisme invertebrata seperti moluska maupun vertebrata seperti ikan (Blackburn et al., 2014; Fodrie et al., 2014), membunuh atau menyebabkan kerusakan pada telur dan larva ikan misalnya kelainan bentuk morfologi, gangguan pertumbuhan, meningkatkan kerentanan terhadap predator, kelaparan, degradasi habitat, hilangnya kemampuan menetas telur, pembusukan struktur insang, gangguan reproduksi, pertumbuhan, perkembangan, dan respirasi (Blackburn et al., 2014; Sørhus et al., 2016). Dalam eksperimen lain mengenai paparan hidrokarbon diesel, para peneliti menemukan bahwa efek utama yang ditimbulkan adalah berkurangnya kekayaan spesies, pemerataan dan keragaman filogenetik serta komunitas pasca paparan. Hanya beberapa spesies bakteri, terutama *Pseudomonas* yang mendominasi pada wilayah tercemar hidrokarbon.

Dampak paparan hidrokarbon minyak bumi pada hewan pada konsentrasi sublethal dapat secara signifikan mengubah perilaku dan perkembangan organisme laut. Efek ini bagaimanapun sulit untuk diukur. Perubahan perilaku dari paparan minyak bumi terutama melibatkan gangguan motilitas, sedangkan pada organisme yang lebih tinggi, mempengaruhi aktivitas makan dan reproduksi. Dampak lain dari pencemaran minyak bumi di lingkungan laut dapat dilihat pada burung, yaitu melalui kontak langsung dengan air ketika mencari mangsa, minyak akan melapisi bulunya, menyebabkan kehilangan alat isolasi termal. Burung-burung itu kemudian tenggelam atau mati karena hipotermia. Minyak juga

bisa tertelan oleh burung saat merapikan bulu yang tercemar minyak (Pathak dan Mandalia, 2012).

Efek pencemaran minyak pada mamalia laut juga terjadi dan sangat bervariasi. Mamalia yang terisolasi bulu kehilangan kemampuannya untuk mengatur suhu secara termal karena bulu mereka yang terkontaminasi minyak kehilangan kapasitas isolasi. Hilangnya isolasi termal menyebabkan aktivitas metabolismenya meningkat tajam untuk mengatur suhu tubuh, hal ini mengakibatkan cadangan lemak dan energi otot cepat habis sehingga dapat menyebabkan kematian hewan karena hipotermia atau tenggelam (Pathak dan Mandalia, 2012).

#### **2.4 Degradasi Minyak Bumi setelah Tumpahan Minyak Laut**

Persistensi polutan minyak bumi bergantung pada kuantitas dan kualitas campuran hidrokarbon dan pada kondisi ekosistem yang tercemar. Dalam satu lingkungan, hidrokarbon minyak bumi dapat bertahan hampir tanpa batas waktu, sedangkan dalam kondisi lain, hidrokarbon yang sama dapat terurai sepenuhnya dalam beberapa jam atau hari. Berkenaan dengan tingkat degradasi alami, ini dibatasi oleh faktor lingkungan. Laju yang dilaporkan untuk perairan laut murni biasanya kurang dari  $0,03 \text{ g m}^{-3} \text{ hari}^{-1}$ . Dalam komunitas yang telah beradaptasi, laju degradasi hidrokarbon  $0,5\text{-}50 \text{ g m}^{-3} \text{ hari}^{-1}$  telah dilaporkan (Atlas, 1995).

Biodegradasi hidrokarbon di lingkungan laut seringkali dibatasi oleh faktor lingkungan abiotik seperti konsentrasi oksigen molekuler, fosfat dan nitrogen (amonium, nitrat dan nitrogen organik) (Atlas 1981). Pada sedimen anaerobik, biodegradasi tidak berlangsung karena oksigen molekuler dibutuhkan oleh sebagian besar mikroorganisme untuk langkah awal dalam metabolisme hidrokarbon. Oksigen, bagaimanapun, tidak terbatas pada lingkungan laut dengan aerasi tinggi. Tingkat fosfat yang rendah dan bentuk nitrogen yang tetap di lingkungan laut paling sering merupakan faktor pembatas laju di lingkungan laut (Atlas, 1995).

Dalam kasus tumpahan *Amoco Cadiz*, yang mencemari sebagian besar garis pantai Brittany, ditemukan bahwa biodegradasi terjadi dengan cepat. Diperkirakan bahwa populasi mikroba di wilayah itu telah beradaptasi dengan degradasi hidrokarbon minyak bumi, karena mereka sering terpapar pelepasan dari tangki air pemberat. Belum dapat diprediksi bahwa laju degradasi hidrokarbon dengan berat molekul rendah akan terjadi menjadi secepat atau lebih cepat dari proses evaporasi dan *dissolution*. Akibat tumpahan tersebut, kini telah dipahami bahwa biodegradasi terjadi hanya setelah periode jeda yang signifikan, biasanya dalam waktu 2-4 minggu, dan bahwa proses disimilasi kimiawi dan fisik minyak selalu mendahului proses biologis. Respon cepat mikroorganisme di sepanjang pantai Brittany terhadap polutan minyak bumi juga diamati setelah bangkai kapal tanker *Tanio*. Dalam kasus tersebut, degradasi hidrokarbon yang cepat dapat dideteksi dalam waktu 24 jam. Selain keberadaan populasi mikroba yang beradaptasi, kondisi lingkungan di sepanjang garis pantai Brittany mendukung untuk biodegradasi minyak bumi yang cepat. Gerakan gelombang mengaerasi ulang garis pantai dan pertanian yang menghasilkan nitrogen dan pupuk yang mengandung fosfor memberikan nutrisi yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon (Atlas, 1995).

Minyak yang dilepaskan dari semburan sumur IXTOC di Teluk Meksiko diperkirakan akan mengalami degradasi dengan cepat seperti yang telah diamati di sepanjang pantai Brittany. Populasi mikroorganisme di Teluk Meksiko dianggap beradaptasi dengan degradasi hidrokarbon. Namun, sebagian besar minyak membentuk emulsi (*mousse*) yang terbukti hampir sepenuhnya tahan terhadap biodegradasi. Mikroorganisme menjajah permukaan *mousse* tetapi tidak mendegradasi hidrokarbon dalam massa emulsi ini. Sebaliknya, mikroorganisme di dalam kolom air dengan cepat mendegradasi hidrokarbon terlarut (Atlas, 1995).

Hingga saat minyak Exxon Valdez tumpah, hidrokarbon bercabang dianggap terdegradasi dengan sangat lambat, relatif terhadap alkana yang tidak bercabang, atau terdegradasi hanya setelah biodegradasi sebagian

besar n-alkana dalam minyak. Dengan demikian, *pristana* dan *fitana* yang merupakan senyawa isoprenoid telah digunakan secara luas sebagai penanda internal yang dapat digunakan untuk mengukur biodegradasi minyak. Dalam Prince William Sound, bagaimanapun, pristane dan phytane dengan cepat terdegradasi dan hanya berfungsi sebagai penanda internal yang sesuai untuk periode waktu yang terbatas (hingga beberapa bulan). Mikroorganisme dalam Prince William Sound diduga telah beradaptasi dengan degradasi terpene, dan keterkaitan struktur terpene dengan hidrokarbon isoprenoid menyebabkan degradasi pristane dan fitane yang cepat. Untungnya, hopan terbukti lebih tahan terhadap biodegradasi daripada hidrokarbon isoprenoid, dan karenanya dapat digunakan sebagai penanda referensi internal. Penguraian hopan yang terbatas telah dicatat pada tumpahan Amoco Cadiz sebelumnya, dan hopan masih dapat diekstraksi dari sedimen yang terkontaminasi oleh tumpahan Torrey Canyon lebih dari satu dekade setelah tumpahan itu terjadi (Atlas, 1995).

## **2.5 Biodegradasi Hidrokarbon Minyak Bumi**

Dalam pengertian mikrobiologis, “biodegradasi” berarti peluruhan/penguraian semua bahan organik yang dilakukan oleh makhluk hidup yang terdiri dari terutama bakteri, cendawan, protozoa dan organisme lain. Melalui proses biologis ini, kontaminan beracun yang berbahaya diubah menjadi zat yang kurang beracun atau tidak beracun. Metabolit sekunder, molekul perantara atau produk degradasi apa pun dari satu organisme dapat menjadi nutrisi bagi organisme lain, memperkaya sumber karbon dan energi, dan selanjutnya dimanfaatkan untuk menguraikan sisa bahan organik ini. Dengan memanfaatkan mikroorganisme, proses biodegradasi mengurangi limbah dan membersihkan sebagian besar kontaminan lingkungan. Secara spesifik, biodegradasi melibatkan transformasi suatu senyawa menjadi senyawa baru melalui reaksi biokimiawi yang melibatkan peranan mikroorganisme seperti bakteri (Eskander dan Saleh, 2017).

Sejak pertengahan abad terakhir, penggunaan mikroorganisme dalam degradasi minyak bumi telah banyak dilaporkan (Staley, 2010). Studi-studi ini menunjukkan bahwa berbagai spesies mikroorganisme pendegradasi minyak bumi ini tersebar luas di lingkungan laut (Atlas, 1995). Pencemaran minyak bumi dilautan menyebabkan hanya bakteri yang dapat menggunakan minyak bumi sebagai sumber energi yang mampu bertahan dan mendominasi. Minyak bumi tersebut dimetabolisme oleh bakteri asli pada lingkungan laut karena kebutuhan energi dan karbon untuk pertumbuhan dan reproduksinya, serta desakan untuk menghilangkan stres fisiologis yang disebabkan oleh adanya hidrokarbon minyak bumi di lingkungannya (Xu et al., 2018; Yang et al., 2015). Setelah kelompok mikroorganisme dominan lainnya terhambat setelah kontaminasi minyak, mikroorganisme degradasi minyak bumi ini berkembang biak dengan cepat dan menjadi spesies dominan.

Ekosistem perairan laut merupakan rumah bagi berbagai bentuk kehidupan mulai dari mikroorganisme, tumbuhan dan alga, invertebrata hingga vertebrata. Tumbuhan, alga dan beberapa plankton berfungsi sebagai produsen utama jaring-jaring makanan dan juga berfungsi sebagai makanan bagi organisme tingkat trofik yang lebih tinggi. Mereka berkontribusi pada agen komersial utama bidang perikanan dan merupakan bagian penting dari makanan manusia yang menyediakan nutrisi penting bagi tubuh (Yuewen dan Adzibli, 2018).

Banyak mikroorganisme memiliki kemampuan enzimatik untuk mendegradasi hidrokarbon minyak bumi. Beberapa mikroorganisme dapat mendegradasi senyawa alkana (n-alkana, alkana bercabang dan parafin siklik), senyawa aromatik, dan hidrokarbon parafin dan aromatik. Seringkali alkana normal ( $C_{10}$ - $C_{26}$ ) diketahui paling mudah terdegradasi. Tetapi senyawa aromatik dengan berat molekul rendah seperti benzena, toluena, dan xilena, merupakan senyawa beracun yang ditemukan dalam minyak bumi juga sangat mudah terurai secara hayati oleh banyak mikroorganisme laut. Struktur yang lebih kompleks (yang memiliki cabang dan atau struktur cincin terkondensasi) lebih sulit mengalami biodegradasi, yang berarti

bahwa lebih sedikit mikroorganisme yang dapat mendegradasi struktur tersebut dan laju biodegradasi lebih rendah daripada laju biodegradasi struktur hidrokarbon sederhana yang ditemukan dalam minyak bumi. Semakin besar kompleksitas struktur hidrokarbon maka semakin tinggi jumlah substituen bercabang metil atau cincin aromatik terkondensasi, maka semakin lambat laju degradasi dan semakin besar kemungkinan terakumulasinya senyawa/metabolit perantara yang hanya teroksidasi sebagian (Atlas, 1995).

Di lingkungan laut, telah ditemukan lebih dari 100 genera, 200 spesies mikroorganisme pendegradasi minyak bumi (misalnya bakteri, fungi, alga). Mikroorganisme ini terdiri dari kelompok bakteri (79 genera), cyanobacteria (9 genera), fungi (103 genera), dan alga (19 genera) yang berpotensi sebagai agen pendegradasi hidrokarbon minyak bumi. Sebagai contoh, di lingkungan laut, bakteri yang memegang peranan penting dalam proses biodegradasi minyak bumi, seperti *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Archrobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Coryneforms*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Actinomycetes*, *Nocardia*, *Aureobasidium*, *Candida*, *Rhodotor*, dan *Sporobolomyces*. Selain itu, beberapa spesies jamur seperti *Aspergillus*, *Mucor*, *Fusarium*, dan *Penicillium* juga telah digali potensinya sebagai agen pendegradasi minyak bumi (Xue et al., 2015).

Mengingat bahwa minyak bumi mengandung banyak senyawa dengan kompleksitas struktural yang berbeda-beda, karenanya seiring dengan proses biodegradasinya, maka sisa-sisa hasil biodegradasi semakin sulit mengalami biodegradasi lebih lanjut. Minyak mentah tidak pernah sepenuhnya terdegradasi dan selalu meninggalkan residu yang kompleks. Residu ini sering muncul sebagai "tar" yang mengandung senyawa aspal dalam proporsi tinggi. Untungnya, toksisitas dan bioavailabilitas cukup rendah dan selama tidak melapisi dan mendominasi suatu area, ia menjadi kontaminan lingkungan yang lembam tanpa efek ekologi beracun (Atlas, 1995).

Biodegradasi dilakukan oleh bakteri pendegradasi minyak bumi dengan menyerap dan memanfaatkan senyawa tersebut sebagai sumber karbon. Langkah paling penting dalam degradasi hidrokarbon minyak bumi adalah bagaimana bakteri dapat mengadakan kontak dengan permukaan minyak bumi. Interaksi ini dapat dilakukan bakteri dengan tiga cara. (1) Penyerapan hidrokarbon minyak bumi dalam fasa air oleh sel mikroba. (2) Sel mikroba secara langsung mengadakan kontak dengan partikel hidrokarbon besar, dan (3) Sel mikroba berinteraksi dengan partikel hidrokarbon yang telah terlapisi. Di antara 3 mekanisme tersebut, hidrofobisitas sel mempengaruhi adhesi bakteri ke hidrokarbon minyak bumi. Secara khusus, hidrofobisitas permukaan bakteri yang tinggi bermanfaat untuk adsorpsi antara bakteri dan hidrokarbon minyak bumi. Oleh karena itu, penambahan biosurfaktan banyak dikaji untuk meningkatkan hidrofobisitas permukaan bakteri (Shi et al., 2019).

Biosurfaktan mikroba dapat mendorong pertumbuhan bakteri pada hidrokarbon dengan meningkatkan luas permukaan antara minyak dan air serta melalui emulsifikasi dan meningkatkan kelarutan hidrokarbon melalui partisi menjadi misel. Biosurfaktan dengan berat molekul tinggi (bioemulsifier) memiliki potensi besar untuk menstabilkan emulsi antara hidrokarbon cair dan air, sehingga meningkatkan luas permukaan yang tersedia untuk biodegradasi bakteri (Banat et al., 2010).

Biodegradasi minyak bumi di lingkungan laut dilakukan oleh populasi bakteri yang beragam, termasuk berbagai spesies *Pseudomonas*. Populasi pendegradasi hidrokarbon tersebar luas di lingkungan laut. Survei bakteri laut menunjukkan bahwa mikroorganisme pengurai hidrokarbon tersebar di mana-mana di lingkungan laut. Secara umum, di lingkungan murni, bakteri pendegradasi hidrokarbon terdiri <1% dari total populasi bakteri yang ada (Atlas, 1981). Bakteri ini diduga memanfaatkan hidrokarbon yang diproduksi secara alami oleh tumbuhan, alga, dan organisme hidup lainnya. Bakteri pendegradasi hidrokarbon juga memanfaatkan substrat lain, seperti karbohidrat dan protein (bakteri hidrokarbonoklastik obligat sangat jarang ditemukan). Dalam banyak kasus, gen degradasi hidrokarbon terdapat



pada plasmid bakteri. Ketika suatu lingkungan terkontaminasi minyak bumi, proporsi mikroorganisme pengurai hidrokarbon meningkat dengan cepat. Khususnya pada lingkungan laut yang terkontaminasi hidrokarbon, terjadi peningkatan proporsi populasi bakteri dengan plasmid yang mengandung gen untuk pemanfaatan hidrokarbon. Proporsi populasi bakteri pendegradasi hidrokarbon di lingkungan laut yang tercemar hidrokarbon seringkali melebihi 10% dari total populasi bakteri (Atlas, 1995).

Jalur metabolisme utama untuk biodegradasi hidrokarbon telah dijelaskan (Atlas, 1981). Langkah awal dalam biodegradasi hidrokarbon oleh bakteri dan jamur melibatkan oksidasi substrat oleh enzim oksigenase, yang membutuhkan oksigen molekuler. Alkana kemudian diubah menjadi asam karboksilat yang selanjutnya dibiodegradasi melalui beta oksidasi (jalur metabolisme pusat untuk pemanfaatan asam lemak dari lipid, yang menghasilkan pembentukan asetat yang kemudian memasuki siklus asam trikarboksilat). Cincin hidrokarbon aromatik umumnya dihidroksilasi untuk membentuk diol, cincin-cincin tersebut kemudian diuraikan dengan membentuk katekol yang selanjutnya didegradasi menjadi senyawa perantara dari siklus asam trikarboksilat. Menariknya, jamur dan bakteri membentuk perantara dengan stereokimia yang berbeda. Jamur, seperti sistem enzim mamalia, membentuk trans-diol, sedangkan bakteri hampir selalu membentuk cis-diol (banyak trans-diol adalah karsinogen kuat sedangkan cis-diol tidak aktif secara biologis). Karena bakteri merupakan pengurai hidrokarbon yang dominan di lingkungan laut, biodegradasi hidrokarbon aromatik menghasilkan detoksifikasi dan tidak menghasilkan karsinogen potensial. Biodegradasi lengkap (mineralisasi) hidrokarbon menghasilkan produk akhir non-toksik karbon dioksida dan air, serta biomassa sel (sebagian besar protein) yang dapat dengan aman diasimilasi ke dalam jaring-jaring makanan (Atlas, 1995).

## **2.6 Biosurfaktan**

Biosurfaktan dikenal sebagai senyawa yang bersifat amfipatik yang diperoleh dari tumbuhan dan mikroorganisme. Senyawa ini terkenal

sebagai molekul alternatif yang menjanjikan untuk aplikasi pada industri (sebagai bahan komestik dan deterjen) dan domestik karena biodegradabilitasnya yang tinggi, toksisitas rendah, multi-fungsi, ramah lingkungan, dan tersedia pada lingkungan atau alam. Belakangan ini, biosurfaktan telah mendapat banyak perhatian karena dianggap sebagai bahan alternatif yang cocok dan ramah lingkungan untuk teknologi bioremediasi (Akbari et al., 2018; Elazzazy et al., 2015).

Dengan peningkatan tajam dalam populasi dan modernisasi masyarakat, pencemaran lingkungan akibat hidrokarbon minyak bumi telah meningkat, yang mengakibatkan kebutuhan remediasi yang mendesak. Bakteri pendegradasi hidrokarbon minyak bumi ada di mana-mana dan dapat memanfaatkan senyawa ini sebagai sumber karbon dan energi. Bakteri yang menunjukkan kemampuan seperti itu sering dieksploitasi untuk bioremediasi lingkungan yang terkontaminasi minyak bumi (Xu et al., 2018). Bakteri yang mampu mendegradasi hidrokarbon dikenal memproduksi senyawa biosurfaktan yang mampu membantu proses emulsifikasi sehingga bakteri dapat mengadakan kontak dengan hidrokarbon dalam proses degradasinya (Khan et al., 2014).

Biosurfaktan memainkan peran penting dalam bioremediasi tumpahan minyak pada lingkungan perairan dengan cara meningkatkan kelarutan komponen petroleum dan secara efektif mengurangi tegangan antarmuka minyak dan air. Untuk aplikasi medis, biosurfaktan berguna sebagai agen antimikroba dan molekul imunomodulator. Surfaktan yang diproduksi mikroba (biosurfaktan) dapat larut dalam pelarut organik (nonpolar) dan pelarut air (polar) dan dikategorikan berdasarkan komposisi kimianya dan asal mikrobanya. Mereka termasuk glikolipid, lipopeptida, kompleks polisakarida-protein, protein, lipopolisakarida, fosfolipid, asam lemak, dan lipida netral (Khan et al., 2014).

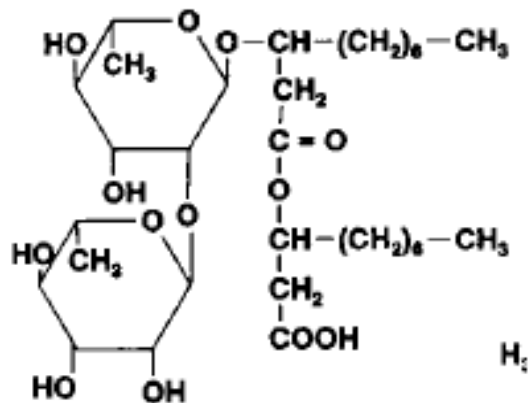
Tidak seperti surfaktan yang disintesis secara kimiawi, yang diklasifikasikan menurut sifat pengelompokan polar mereka, biosurfaktan dikategorikan terutama berdasarkan komposisi kimia dan mikroba yang menghasilkannya. Secara umum, strukturnya meliputi bagian hidrofilik yang

terdiri dari asam amino atau peptida ion atau kation, mono-, di-, atau polisakarida, dan bagian hidrofobik yang terdiri dari asam lemak tak jenuh atau asam lemak jenuh. Dengan demikian, kelas utama biosurfaktan termasuk glikolipid, lipopeptida dan lipoprotein, fosfolipid dan asam lemak, surfaktan polimer, dan surfaktan partikulat. Meskipun ada sejumlah laporan tentang sintesis biosurfaktan oleh mikroorganisme pendegradasi hidrokarbon, beberapa biosurfaktan telah dilaporkan diproduksi pada senyawa yang larut dalam air seperti glukosa, sukrosa, gliserol, dan oretanol. Mikroba penghasil biosurfaktan terdiri dari berbagai genera. Jenis utama biosurfaktan, dengan sifat dan spesies mikroba asalnya (Desai dan Banat, 1997).

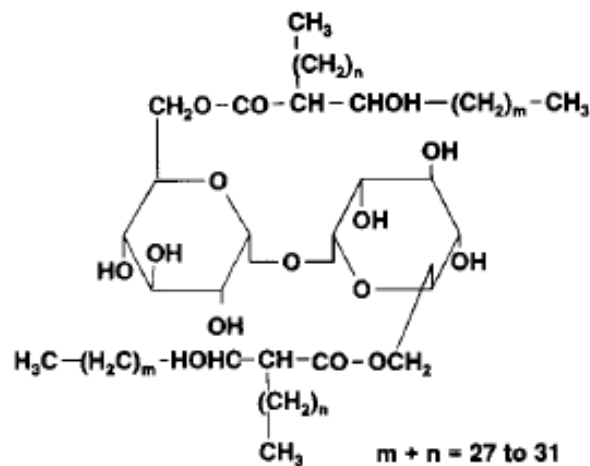
### 2.6.1 Glikolipid

Biosurfaktan yang paling dikenal adalah glikolipid. Mereka adalah karbohidrat yang dikombinasikan dengan asam alifatik rantai panjang atau asam hidroksalifatik. Di antara glikolipid, yang paling terkenal adalah rhamnolipid, trehalolipid, dan sophorolipid (Desai dan Banat, 1997).

Rhamnolipid, di mana satu atau dua molekul rhamnose terkait dengan satu atau dua molekul asam  $\beta$ -hydroxydecanoic, adalah glikolipid yang paling banyak dipelajari. Produksi glikolipid yang mengandung rhamnose pertama kali dijelaskan pada *Pseudomonas aeruginosa* oleh Jarvis dan Johnson. L-Rhamnosyl-L-rhamnosyl- $\beta$ -hydroxydecanoyl- $\beta$ -hydroxydecanoate dan L-rhamnosyl- $\beta$ -hydroxydecanoyl- $\beta$ -hydroxydecanoate, masing-masing disebut sebagai rhamnolipid 1 dan 2, adalah glikolipid utama yang diproduksi oleh *P. aeruginosa*. Pembentukan rhamnolipid tipe 3 dan 4 yang mengandung satu asam  $\beta$ -hidroksidekanoat dengan satu dan dua unit rhamnose masing-masing, turunan metil ester dari rhamnolipid 1 dan 2, dan rhamnolipid dengan rantai asam lemak alternatif juga telah dilaporkan. Rhamnolipids dari *Pseudomonas* sp. telah dibuktikan menurunkan tegangan antarmuka terhadap n-heksadekana hingga 1 mN / m dan tegangan permukaan hingga 25 hingga 30 mN / m. Mereka juga mengemulsi alkana sehingga merangsang pertumbuhan *P. aeruginosa* pada substrak heksadekan (Desai dan Banat, 1997).

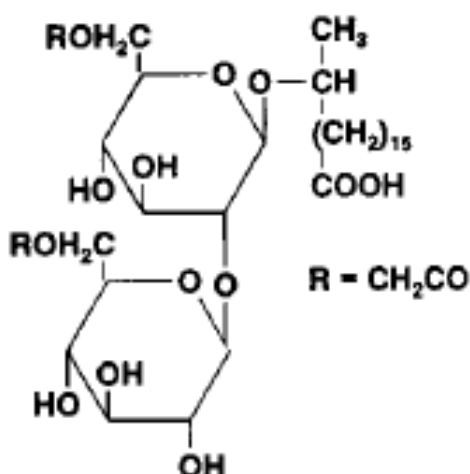


**Gambar 3.** Struktur Rhamnolipid (Desai dan Banat, 1997)



**Gambar 4.** Struktur Trehalolipid (Desai dan Banat, 1997)

Beberapa tipe struktural biosurfaktan trehalolipid mikroba telah dilaporkan (Gambar 4). Trehalosa disakarida terkait di C-6 dan C-69 dengan asam mikolat dikaitkan dengan sebagian besar spesies *Mycobacterium*, *Nocardia*, dan *Corynebacterium*. Asam mikolat adalah asam lemak rantai panjang dan bercabang. Trehalolipid dari berbagai organisme berbeda dalam ukuran dan struktur asam mikolat, jumlah atom karbon, dan tingkat ketidakjenuhan. Trehalosa dimikolat yang diproduksi oleh *Rhodococcus erythropolis* telah dipelajari secara ekstensif. *R. erythropolis* juga mensintesis lipid trehalosa anionik baru. Lipid trehalosa dari *R. erythropolis* dan *Arthrobacter* sp. menurunkan tegangan permukaan dan antarmuka dalam media kultur masing-masing menjadi 25 hingga 40 mN/m dan 1 hingga 5 mN/m (Desai dan Banat, 1997).



**Gambar 5.** Struktur Sophorolipid (Desai dan Banat, 1997)

Sophorolipid, yang diproduksi terutama oleh ragi seperti *Torulopsis bombicola*, *T. petrophilum*, dan *T. apicola*, terdiri dari sophorosa karbohidrat dimerik yang dihubungkan dengan asam lemak hidroksi rantai panjang (Gambar 5). Biosurfaktan ini adalah campuran dari setidaknya enam hingga sembilan sophorosida hidrofobik yang berbeda. Campuran serupa dari sophorolipid larut air dari beberapa ragi juga telah dilaporkan. Cutler dan Light menunjukkan bahwa *Candida bogoriensis* menghasilkan glikolipid dalam bentuk sophorosa terkait dengan asam dokosanoat diasetat. *T. petrophilum* menghasilkan sophorolipid pada substrat yang tidak larut dalam air seperti alkana dan minyak nabati. Sophorolipid ini, yang secara kimiawi identik dengan yang diproduksi oleh *T. bombicola*, tidak mengemulsi alkana atau minyak nabati. Ketika *T. petrophilum* ditanam pada media ekstrak ragi glukosa, bagaimanapun, sophorolipid tidak diproduksi, tetapi agen pengemulsi alkana yang mengandung protein efektif terbentuk. Hasil ini tampaknya bertentangan dengan teori terdahulu bahwa pengemulsi mikroba dan surfaktan diproduksi untuk memfasilitasi penyerapan substrat yang tidak larut dalam air. Meskipun sophorolipid dapat menurunkan tegangan permukaan dan antarmuka, mereka bukanlah agen pengemulsi yang efektif. Baik sophorolipid laktonat dan asam menurunkan tegangan antarmuka antara n-heksadekana dan air dari 40 menjadi 5 mN / m dan menunjukkan stabilitas yang luar biasa terhadap perubahan pH dan suhu (Desai dan Banat, 1997).

## 2.6.2 Lipopeptides dan Lipoproteins

Sejumlah besar lipopetida siklik termasuk dekapeptida antibiotik (gramicidins) dan antibiotik lipopeptida (polymyxins), diproduksi oleh *Bacillus brevis* dan *B. polymyxa*, masing-masing memiliki sifat aktif permukaan yang tinggi. Ornithine mengandung lipid dari *P. rubescens* dan *Thiobacillus thiooxidans*, cerilipin, ornithine dan taurin yang mengandung lipid dari *Gluconobacter cerinus* IFO 3267, dan lipid yang mengandung lisin dari *Agrobacterium tumefaciens* IFO 3058 juga menunjukkan aktivitas biosurfaktan yang sangat baik. Sebuah biosurfaktan aminolipid yang disebut serratomolide telah diisolasi dari *Serratia marcescens* NS.38. Studi pada mutan serratomolide menunjukkan bahwa biosurfaktan meningkatkan hidrofilitas sel dengan memblokir situs hidrofobik pada permukaan sel. Surfaktin lipopeptida siklik, diproduksi oleh *B. subtilis* ATCC 21332, adalah salah satu biosurfaktan yang paling kuat. Ini menurunkan tegangan permukaan dari 72 menjadi 27,9 mN/m pada konsentrasi serendah 0,005%. *B. licheniformis* menghasilkan beberapa biosurfaktan yang bekerja secara sinergis dan menunjukkan suhu, pH, dan stabilitas garam yang sangat baik. Surfaktan BL-86, yang diproduksi oleh *B. licheniformis* 86, mampu menurunkan tegangan permukaan air menjadi 27 mN/m dan tegangan antarmuka antara air dan n-heksadekana menjadi 0,36 mN/m dan meningkatkan dispersi koloid b-silikon karbida dan bubuk aluminium nitrida. Analisis struktur baru-baru ini mengungkapkan bahwa itu adalah campuran lipopeptida dengan komponen utama dengan ukuran mulai dari 979 hingga 1.091 Da. Setiap molekul mengandung tujuh asam amino dan satu bagian lipid yang terdiri dari 8 sampai 9 gugus metilen dan campuran ekor linier dan bercabang (Desai dan Banat, 1997).

Karakteristik penting lainnya dari senyawa ini adalah kemampuannya untuk melisis eritrosit mamalia dan membentuk sferoplas, sifat ini telah digunakan untuk mendeteksi produksi surfaktin melalui hemolisis pada agar darah. Baru-baru ini, Yakimov et al. telah menunjukkan produksi surfaktan lipopetida baru, lichenysin A, oleh *B. licheniformis* BAS-50 yang mengandung asam lemak b-hidroksi rantai

panjang. Likensin A mengurangi tegangan permukaan air dari 72 menjadi 28 mN/m dengan CMC sedikitnya 12 mM, dibandingkan dengan surfaktan (24 mM). Karakterisasi rinci likensin A menunjukkan bahwa isoleusin adalah asam amino C-terminal bukan leusin dan residu asparagin hadir sebagai pengganti asam aspartat seperti pada peptida surfaktan. Penambahan asam amino rantai cabang ke media menyebabkan perubahan serupa pada bagian lipofilik likensin-A dan penurunan aktivitas tegangan permukaan (Desai dan Banat, 1997).

### **2.6.3 Asam lemak, fosfolipid dan lipid netral**

Beberapa bakteri dan ragi menghasilkan asam lemak dan jenis surfaktan fosfolipid dalam jumlah besar selama pertumbuhan pada substrat n-alkana. Asam lemak yang dihasilkan dari alkana merupakan hasil oksidasi mikroba yang dianggap sebagai surfaktan. Selain asam rantai lurus tersebut, mikroorganisme menghasilkan asam lemak kompleks yang mengandung gugus OH dan cabang alkil, contoh asam kompleks tersebut antara lain asam corynomuolic (Shah et al., 2016).

Fosfolipid adalah komponen utama membran mikroba, ketika bakteri atau ragi pendegradasi hidrokarbon tertentu ditanam pada substrat alkana, tingkat fosfolipid meningkat pesat. Ketika bakteri *Acinetobacter* sp. tumbuh pada substrat Hexadecane, ia menghasilkan fosfolipid yang utamanya adalah fosfatidiletanolamina (Shah et al., 2016).

### **2.6.4 Biosurfaktan Polimer**

Biosurfaktan polimer yang paling banyak dipelajari adalah emulsan, liposan, mannoprotein, dan kompleks protein polisakarida lainnya. *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 menghasilkan bioemulsifier heteropolysaccharide polianionik amphipathic kuat yang disebut emulsan. Tulang punggung heteropolisakarida mengandung trisakarida berulang N-asetil-D-galaktosamin, asam uronat N-asetilgalaktosamin, dan gula amino N-asetil tidak dikenal. Asam lemak secara kovalen terkait dengan polisakarida melalui hubungan O-ester. Emulsan adalah agen pengemulsi yang sangat efektif untuk hidrokarbon dalam air bahkan pada konsentrasi

serendah 0,001 hingga 0,01%. Ini adalah salah satu penstabil emulsi terkuat yang dikenal saat ini dan tahan terhadap rasio air-minyak 1: 4. Dalam jangka waktu lama, emulsi ini terpisah menjadi dua lapisan. Lapisan krim atas, yang dikenal sebagai emulsanosol, mengandung 70 hingga 75% minyak (Desai dan Banat, 1997).

Biodispersan adalah zat pendispersi ekstraseluler yang diproduksi oleh *A. calcoaceticus* A2. Ini adalah heteropolisakarida anionik, dengan berat molekul rata-rata 51.400 dan mengandung empat gula pereduksi, yaitu, glukosamin, 6-metilaminoheksosa, asam uronat galaktosamin, dan gula amino tak teridentifikasi. Liposan adalah pengemulsi yang larut dalam air yang disintesis secara ekstraseluler oleh *Candida lipolytica* dan terdiri dari 83% karbohidrat dan 17% protein. Porsi karbohidrat merupakan heteropolisakarida yang terdiri dari glukosa, galaktosa, galaktosamin, dan asam galakturonat. Palejwala dan Desai melaporkan produksi oleh bakteri gram negatif dari bioemulsifier yang kuat dengan karbohidrat sebagai komponen utama. Sar dan Rosenberg mendemonstrasikan bahwa polisakarida tidak memiliki aktivitas emulsifikasi sendiri tetapi menjadi pengemulsi yang efektif bila dikombinasikan dengan beberapa protein yang dilepaskan selama pertumbuhan pada etanol. Cameron et al baru-baru ini melaporkan produksi mannoprotein dalam jumlah besar oleh *Saccharomyces cerevisiae*. Protein ini menunjukkan aktivitas pengemulsi yang sangat baik terhadap beberapa minyak, alkana, dan pelarut organik. Pengemulsi yang dimurnikan mengandung 44% mannose dan 17% protein. Kappeli et al telah mengisolasi kompleks asam lemak mannan dari *Candida tropicalis* yang ditumbuhkan pada alkana, emulsi heksadekana dalam air kompleks menjadi stabil. *Schizonella malanogramma* dan *Ustilago maydis* menghasilkan biosurfaktan yang telah dikarakterisasi sebagai lipid yang mengandung eritritol dan manosa. Baru-baru ini, Kitamoto et al mendemonstrasikan produksi dua jenis lipid mannosylerythritol di *Candida antarctica* T-34 (Desai dan Banat, 1997).



### 2.6.5 Biosurfaktan Partikulat

Membran vesikel ekstraseluler mempartisi hidrokarbon membentuk mikroemulsi yang berperan penting dalam serapan alkana oleh sel mikroba. Vesikel *Acinetobacter* sp. strain HO1-N dengan diameter 20 sampai 50 nm dan densitas apung 1,158 g / cm<sup>3</sup> tersusun atas protein, fosfolipid, dan lipopolisakarida. Vesikel membran mengandung sekitar 5 kali lebih banyak fosfolipid dan sekitar 350 kali lebih banyak polisakarida seperti halnya membran luar dari organisme yang sama. Aktivitas surfaktan pada sebagian besar bakteri pendegradasi hidrokarbon dan patogen dikaitkan dengan beberapa komponen permukaan sel, yang meliputi struktur seperti protein M dan asam lipoteikoat pada kasus *Streptococcus*, protein A pada *Staphylococcus aureus*, lapisan A pada *Aeromonas salmonicida*, prodigiosin dalam *Serratia* spp., gramicidins pada spora *Bacillus brevis*, dan fimbriae tipis pada *A. calcoaceticus* RAG-1 (Desai dan Banat, 1997).

### 2.7 TENSIO AKTIF

Setelah membahas biosurfaktan secara rinci, penting untuk membahas fenomena tegangan permukaan dasar yang digunakan untuk mengevaluasi surfaktan. Aktivitas permukaan dapat ditentukan dengan mengukur perubahan tegangan permukaan, tegangan antarmuka, stabilisasi/destabilisasi emulsi, dan keseimbangan hidrofilik/lipofilik (HLB) (Sobrinho et al., 2014).

Tegangan permukaan adalah parameter yang sangat penting dalam sejumlah fenomena fisik seperti adsorpsi dan dihubungkan dengan keterlibatannya dalam konsep produk industri seperti makanan, deterjen, kosmetik dan sebagainya. Tegangan permukaan didefinisikan sebagai energi yang dibutuhkan untuk menciptakan luas unit interfase dan surfaktan memainkan peran penting dalam menurunkan tegangan permukaan air pada antarmuka air-udara. Setelah mencampur sejumlah surfaktan dalam air, antarmuka air-udara ditempati oleh monomer surfaktan, mengarahkan gugus kepala hidrofilik ke air dan rantai hidrofobik ke udara. Fenomena

ini yang bertanggung jawab dalam proses penurunan tegangan permukaan (Baccile et al., 2021).

Tegangan permukaan adalah bagian yang paling penting dari agen tensioaktif dan merupakan gaya tarik antar molekul dalam cairan. Permukaan didefinisikan sebagai batas antara cairan dan udara di sekitarnya dan antarmuka didefinisikan sebagai batas antara dua cairan. Tegangan antara fase udara/air dan minyak/air masing-masing dikenal sebagai tegangan permukaan dan tegangan antarmuka. Tegangan permukaan diukur secara kuantitatif menggunakan tensiometer. Pengukuran ini adalah dasar dari sebagian besar evaluasi awal untuk identifikasi keberadaan surfaktan dalam medium. Tegangan permukaan udara / air untuk air suling kira-kira 72 mN/m (atau dynes/cm). Tegangan antarmuka untuk air suling dan n-hexadecane kira-kira 40 mN/m. Surfaktan biasanya mengurangi nilai ini masing-masing menjadi 30-40 mN/m dan 1 mN/m (Sobrinho et al., 2014).

Tegangan permukaan berkurang dengan peningkatan konsentrasi surfaktan dalam media air dan pembentukan misel. Misel adalah molekul amphipathic teragregasi dengan gugus hidrofilik yang diposisikan ke arah bagian luar molekul dan gugus hidrofobik diposisikan ke arah bagian dalam. Konsentrasi misel kritis (CMC) sesuai dengan konsentrasi minimum surfaktan yang diperlukan untuk mencapai pengurangan maksimum tegangan permukaan. Pada konsentrasi di atas CMC, molekul biosurfaktan berasosiasi untuk membentuk misel. Efisiensi dan efektivitas adalah karakteristik penting dari surfaktan yang baik. Efisiensi diukur dengan CMC, sedangkan efektivitas terkait dengan tegangan permukaan dan antarmuka. Emulsi terbentuk ketika fasa cair terdispersi sebagai tetesan mikroskopis dalam fasa cair kontinu lainnya. Dua jenis emulsi dapat dibentuk air dalam minyak (surfaktan minyak yang lebih larut) dan minyak dalam air (surfaktan yang lebih larut dalam air). Stabilitas emulsi bergantung pada sejumlah faktor, seperti ukuran tetesan yang terdispersi, yang dipengaruhi oleh penurunan tegangan permukaan. Kehadiran pengemulsi atau demulsifier masing-masing menstabilkan atau mendestabilkan emulsi. Kapasitas

pengemulsi dianalisis dengan kemampuan surfaktan untuk menyebabkan kekeruhan akibat suspensi hidrokarbon, seperti n-heksadekana, dalam sistem berair. Kapasitas demulsifikasi umumnya dinilai dengan efek agen demulsifikasi pada emulsi normal yang dibuat dengan agen tensioaktif sintetik (Sobrinho et al., 2014).