

PEMANFAATAN MINYAK JELANTAH UNTUK OPTIMASI PRODUKSI BIOSURFAKTAN DARI *Brevundimonas terrae*

The Use of Waste Frying Oil to Optimize the Production of Biosurfactant from *Brevundimonas terrae*

Irma Mardiah, Ika Fatimah, Syarif Hamdani, Nur Asni Setiani
Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
Jalan Soekarno Hatta No. 354 Bandung
E-mail: irma@stfi.ac.id

ABSTRACT

Biosurfactants are surface tension lowering agents produced by microorganisms which have advantages in many respects over synthetic surfactants. Biosurfactants are more environmentally friendly and can be used widely in pharmaceutical field. One of the bacteria that has not been widely explored as biosurfactants producer is Brevudimonas terrae. The production of biosurfactants in these bacteria also needs to be optimized, including by using waste frying oil as a carbon source. The purpose of this study was to obtain optimum conditions in the production of bio-surfactants by utilizing waste frying oil as a carbon source from this bacteria. In this study, variations in the optimized production conditions included the concentration of waste frying oil, labelled 2%, 3%, 4%, and 5% and the medium pH at 6, 7, and 8. The study was using Mineral Salt Medium as production medium, the amount of inoculum concentration was 10% v/v, agitation speed 160 rpm and incubation at room temperature. The optimum conditions for biosurfactant production were determined based on the best emulsification index. The biosurfactant extraction was carried out using a combination of chloroform and methanol (2:1) solvents. The best concentrations of waste frying oil for Brevundimonas terrae was 3%, and the best medium pH was 7. Biosurfactants produced from this bacteria amounted to 9,63 g/L with an emulsification index 61,25%.

Keywords: Mineral Salt Medium, Emulsification Index, pH

Diterima: Desember 2021

Direview: Januari 2022

Diterbitkan: Februari 2022

ABSTRAK

Biosurfaktan adalah agen penurun tegangan permukaan yang diproduksi oleh mikroorganisme yang memiliki berbagai kelebihan dibandingkan surfaktan sintetik. Biosurfaktan lebih ramah lingkungan dan dapat digunakan secara luas di bidang farmasi. Salah satu bakteri yang belum banyak dieksplorasi sebagai penghasil biosurfaktan adalah *Brevundimonas terrae*. Produksi biosurfaktan pada bakteri ini perlu dioptimasi, termasuk dalam menggunakan minyak jelantah sebagai sumber karbonnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan kondisi optimum dalam produksi biosurfaktan dengan menggunakan minyak jelantah sebagai sumber karbon. Pada penelitian ini, variasi optimasi kondisi produksi diantaranya konsentrasi minyak jelantah pada 2%, 3%, 4%, dan 5% dan pH medium 6, 7, dan 8. Penelitian ini menggunakan *Mineral Salt Medium* sebagai medium produksi, jumlah konsentrasi inokulum sebanyak 10% v/v, kecepatan agitasi 160 rpm dan diinkubasi pada suhu ruang. Kondisi optimum untuk produksi biosurfaktan ditentukan berdasarkan nilai indeks emulsifikasi terbaik. Ekstraksi biosurfaktan dilakukan menggunakan kombinasi pelarut kloroform dan methanol (2:1). Konsentrasi terbaik minyak jelantah adalah 3% dan pH medium terbaik adalah 7. Biosurfaktan yang diproduksi bakteri ini sebesar 9,63 g/L dengan indeks emulsifikasi 61,25%.

Kata Kunci : Mineral Salt Medium. Indeks Emulsifikasi, pH

PENDAHULUAN / INTRODUCING

Biosurfaktan adalah senyawa aktif yang memiliki aktivitas penurun tegangan permukaan (surfaktan) yang diproduksi atau diekskresi oleh permukaan sel mikroba. Surfaktan mikroba menawarkan beberapa keuntungan dibanding penggunaan surfaktan sintesis seperti toksisitas rendah, mudah terdegradasi, dan aktif pada kondisi pH dan salinitas ekstrim (Costa *et al.*, 2018). Beberapa jenis biosurfaktan seperti rhamnolipid juga dilaporkan mengandung agen antimikroba (Pessione & Garcia-Contreras R, 2021). Namun nilai lebih yang dimiliki biosurfaktan ini belum dapat dinikmati secara luas karena keberadaannya yang sulit ditemukan di pasar dikarenakan produksinya yang rendah, penggunaan bahan baku dan proses yang membutuhkan biaya tinggi (Satpute *et al.*, 2017). Salah satu strategi yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ini adalah dengan pemilihan bahan baku yang murah dan dapat diperbaharui (Antunes *et al.*, 2022). Penelitian Pathania *et al.* (2021) menyebutkan bahwa minyak jelantah menjadi sumber karbon yang potensial karena keberadaannya yang melimpah di setiap perkotaan. Telah dicapai produksi biosurfaktan dengan nilai indeks emulsifikasi sebesar 34% pada *Bacillus licheniformis* NJ1 menggunakan minyak Bandung, media Nutrient Agar (NA) (Merck®), 0,9% (Ecosol®), kloroform pro analisis NaNO₃, KH₂PO₄, K₂HPO₄ (Merck®), KCl, (Merck®), metanol pro analisis (Fulltime®), MgSO₄·7H₂O, CaCl₂·2H₂O, FeSO₄·7H₂O, syringe filter PTFE 0,22µm (Agilent®), kertas NaOH, HCl, yeast extract (Merck®), akuades, saring, blue tip, dan etanol 70% (Brataco®). minyak kelapa sawit (Kunci Mas®), asam oksalat, indikator fenofltalein, etanol 95%, NaCl fisiologis

jelantah. Selain itu, kondisi yang mempengaruhi produksi biosurfaktan diantaranya suhu, pH, periode inkubasi dan konsentrasi glukosa (Mouafi *et al.*, 2016).

Telah dilakukan penelitian penapisan bakteri penghasil biosurfaktan, salah satunya adalah *Brevundimonas terrae* dengan jenis biosurfaktan golongan lipopeptida. Biosurfaktan dari bakteri tersebut juga memiliki aktivitas antibakteri (Agustina, 2019). Perlu dilakukan penelitian optimasi produksi biosurfaktan dari bakteri ini. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi optimum produksi biosurfaktan dari bakteri *Brevundimonas terrae* dengan sumber karbon minyak jelantah.

METODE PENELITIAN / METHOD

2.1 Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Juli sampai Oktober 2020 di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kimia, Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Jalan Soekarno Hatta No. 354 Bandung.

2.2 Bahan dan alat

Bahan yang digunakan pada penelitian adalah bakteri *Brevundimonas terrae* koleksi Laboratorium Mikrobiologi STFI, limbah minyak goreng (jelantah) dari Rumah Makan di

Bandung, media Nutrient Agar (NA) (Merck®), 0,9% (Ecosol®), kloroform pro analisis NaNO₃, KH₂PO₄, K₂HPO₄ (Merck®), KCl, (Merck®), metanol pro analisis (Fulltime®), MgSO₄·7H₂O, CaCl₂·2H₂O, FeSO₄·7H₂O, syringe filter PTFE 0,22µm (Agilent®), kertas NaOH, HCl, yeast extract (Merck®), akuades, saring, blue tip, dan etanol 70% (Brataco®). Alat yang digunakan pada penelitian adalah shaker (IKA® KS 260), autoklaf (My Life® MA

678GE), inkubator (Mettler® UN110), b. Penetapan Kadar Asal Lemak Minyak
Laminar Air Flow (LAF) (Ersa Scientific), Jelantah (BSN, 2012)

oven (Mettler® UN110), Minyak jelantah ditimbang sebanyak 10 gram,
spektrofotometer UV-Visibel (Shimadzu® dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Etanol
UV1800), colony counter (Rocker® galaxy 95% hangat ditambahkan sebanyak 50 mL
230), neraca analitik (Ohaus®), pH meter kemudian ditambahkan 5 tetes indikator
(Eutech® pH 700), vortex mixer fenolftalein (PP), dititrasi dengan NaOH 0,1 N
(Barnstead® type 37600), centrifuge hingga terjadi perubahan warna menjadi merah
(Hettich® Zentrifugen D-78532 tuttligen), muda.

magnetic stirrer (Daiha® Scientific), buret,
kuvet (Helma®), mikropipet
(FisherBrand® Elite), cawan petri, kawat

ose, tabung falkon 50 mL (Nest®), Syringe
(OneMed®), tabung sentrifuge 15 mL
(Nest®), vial 20 mL, dan alat-alat gelas lain.

2.3 Tahap penelitian

a. Identifikasi Organoleptik (BSN, 2012)

Pengujian dilakukan secara organoleptik.
Minyak jelantah diambil sebanyak 2 mL dan
diletakkan di atas kaca arloji bersih dan kering.

Minyak jelantah diamati warna dan baunya.

kemudian disterilisasi pada suhu 121oC selama 15
menit (Hisham *et al.*, 2019).

d. Kurva Pertumbuhan Bakteri *Brevundimonas terrae*

Masing-masing bakteri diambil 1-2 ose dari
biakan murni kemudian diinokulasikan
kedalam 100 mL media MSM dalam
Erlenmeyer 250 mL. Kultur diinkubasi
menggunakan shaker dengan kecepatan
160 rpm pada suhu ruang. Pengamatan
dilakukan terhadap nilai Optical Density
(OD) menggunakan spektrofotometer UV-
Vis pada panjang gelombang 600 nm setiap
24 jam hingga bakteri memasuki fase
kematian.

e. Optimasi Kondisi Produksi Biosurfaktan

Kadar Asam Lemak

$$= \frac{ml NaOH \times NaOH \times BM Minyak}{g minyak \times 1000} \times 100$$

c. Media Pertumbuhan

Pada erlenmeyer 2 L, diisi dengan 1 L media
Mineral Salt Medium (MSM) dengan komposisi
(g/L): NaNO₃ (7.0 gram), KH₂PO₄ (0.5 gram),
K₂HPO₄ (1.0 gram), KCl (0.1 gram),
MgSO₄.7H₂O (0.5 gram), CaCl₂.2H₂O (0.01
gram), FeSO₄.7H₂O (0.01 gram), yeast extract
(0.1 gram) dan akuades sampai 1 L. Medium

Variasi Konsentrasi Karbon (Minyak Jelantah)

Sebanyak 25 mL media MSM di dalam
tabung falkon 50 mL ditambahkan dengan
minyak jelantah dengan variasi konsentrasi
sebesar 2, 3, 4, dan 5% (v/v). Lalu media
tersebut di-adjust pH dengan NaOH 0,1 N
hingga pH 7. Setelah itu masing-masing
suspensi bakteri diinokulasikan ke dalam
media sebanyak 2,5 ml (10% v/v) kemudian
diinkubasi dengan shaker kecepatan 160 rpm
selama 6 hari pada suhu ruang. Kultur dari
sampel diambil setiap 24 jam. Hasil produksi
dipisahkan dari sel dengan sentrifugasi
kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit hingga
diperoleh supernatan.

Variasi pH

Sebanyak 25 mL media MSM di dalam tabung falkon 50 mL ditambahkan dengan 0,1 N atau HCl 0,1 N hingga pH 6,7,dan 8. Setelah itu masing-masing suspensi bakteri diinokulasikan ke ke dalam media sebanyak 2,5 ml (10% v/v) kemuadian diinkubasi dengan shaker kecepatan 160 rpm selama 6 hari pada suhu ruang. Kultur dari sampel diambil setiap 24 jam. Hasil produksi dipisahkan dari sel dengan sentrifugasi kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit hingga diperoleh supernatan.

f. Pengukuran Indeks Emulsifikasi (IE24)

Indeks emulsifikasi dilakukan pada setiap supernatan, diukur dengan memasukkan 2 mL supernatan dan 2 mL minyak kelapa sawit dalam tabung reaksi. Campuran ini diaduk menggunakan vortex mixer selama 1 menit kemudian dibiarkan selama 24 jam pada suhu

dengan shaker kecepatan 160 rpm selama 1 hari. Hasil produksi dipisahkan dari sel dengan sentrifugasi kecepatan 4.000 rpm selama 30 menit hingga diperoleh supernatan. Supernatan yang didapat kemudian diasamkan dengan HCl 2 N hingga pH 2. Selanjutnya didiamkan selama 12 jam pada suhu 4 °C kemudian diekstraksi dengan kloroform:metanol (2:1) sama banyak menggunakan metode pengadukan selama 2 jam. Hasil ekstraksi diuapkan pelarutnya menggunakan waterbath hingga didapatkan crude biosurfaktan. *Crude* biosurfaktan dikeringkan dengan oven pada suhu 60°C, selanjutnya ditimbang hingga bobot konstan (Hisham *et al.*, 2019).

minyak jelantah dengan konsentrasi 3%, kemudian media di-adjust pH dengan NaOH

ruang. Setelah 24 jam tinggi lapisan emulsi yang terbentuk diukur.

Nilai indeks emulsifikasi (E24) merupakan persentase dari tinggi lapisan emulsi (cm) dibagi dengan tinggi total larutan (cm).

Indeks Emulsifikasi (E24)

$$= \frac{\text{tinggi lapisan emulsi}}{\text{tinggi total larutan}} \times 100$$

g. Produksi dan Ekstraksi Biosurfaktan dari Bakteri *Brevundimonas terrae*

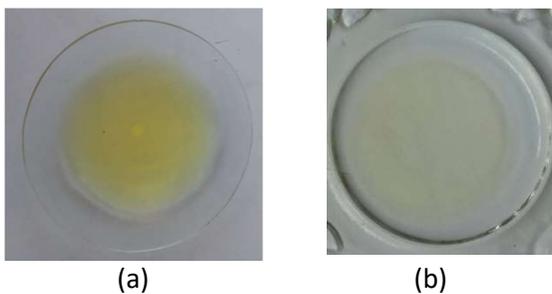
Sebanyak 100 mL media MSM di dalam Erlenmeyer ditambahkan dengan minyak jelantah dengan konsentrasi masing-masing 3%, kemudian media di-adjust pH dengan NaOH 0,1 N atau HCl 0,1 N hingga pH 6. Setelah itu masing-masing kultur bakteri diinokulasikan ke ke dalam media sebanyak 10 ml (10% v/v) kemudian diinkubasi

HASIL DAN PEMBAHASAN / RESULTS AND DISCUSSION

Hasil identifikasi organoleptik berupa warna dan bau dari minyak jelantah yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Tabel 1 Hasil identifikasi organoleptik minyak jelantah

Pengujian	Hasil
Warna	Kuning gelap
Bau	Bau khas minyak bekas pakai (agak tengik)

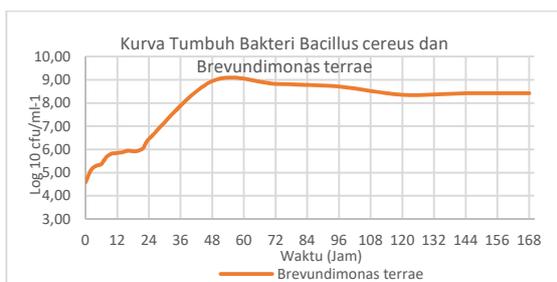


(a) (b)
Gambar 1. Perbandingan warna minyak yang dipakai (a) minyak jelantah.; dan (b) minyak kelapa sawit

Kadar asam lemak bebas menggunakan metode titrasi alkalimetri menunjukkan nilai 0,31%. Kandungan asam lemak bebas dalam minyak jelantah dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan biosurfaktan sebagai sumber karbon bagi bakteri (Rengga *et al.*, 2018).

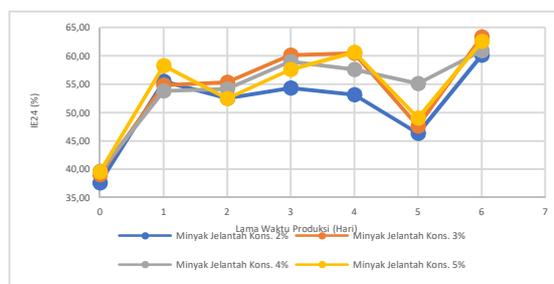
Hasil identifikasi organoleptik menunjukkan minyak jelantah yang digunakan berwarna lebih gelap. Menurut Sopianti *et al.*, (2017) minyak bekas pakai mengalami degradasi dan oksidasi akibat pemanasan, yang teramati pada warna minyak yang menjadi lebih gelap.

Berdasarkan hasil kurva pertumbuhan diketahui pola pertumbuhan bakteri *Brevundimonas terrae* yang tertera pada gambar 2. Fase adaptasi pada bakteri *Brevundimonas terrae* terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-20, fase logaritmik atau eksponensial terjadi dari jam ke-20 hingga jam ke-48 kemudian memasuki fase stasioner jam ke-49.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan bakteri *Brevundimonas terrae*

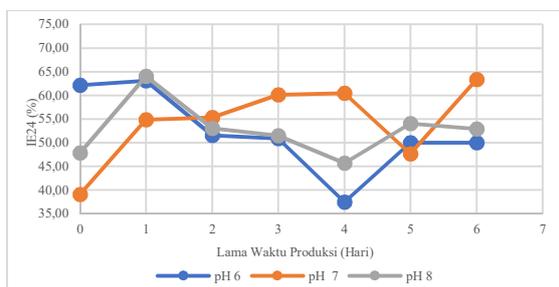
Bakteri *Brevundimonas terrae* ditumbuhkan pada media MSM dengan 4 variasi konsentrasi yaitu 2%, 3%, 4%, dan 5%. Proses optimasi kondisi produksi biosurfaktan dilakukan selama 6 hari sesuai dengan hasil dari kurva pertumbuhan bahwa fase stasioner berlangsung hingga hari ke-6. Hasil produksi biosurfaktan yang dengan pengukuran indeks emulsifikasi (IE24) dapat dilihat pada gambar 3. Hasil nilai IE24 tertinggi pada variasi konsentrasi bakteri *Brevundimonas terrae* adalah 63,33% dengan konsentrasi minyak jelantah 3%.



Gambar 3. Grafik nilai IE24 dari Variasi Konsentrasi Minyak Jelantah pada bakteri *Brevundimonas terrae*

Hasil ini serupa dengan penelitian Oliveira dan Garcia-Cruz (2013) yang menggunakan bakteri *Bacillus pumilus* dengan konsentrasi minyak jelantah yang paling optimal adalah 3% dengan waktu produksi 96 jam. Penelitian yang dilakukan Oliveira dan Garcia-Cruz (2013) juga menunjukkan kenaikan dan penurunan nilai indeks emulsifikasi pada variasi konsentrasi minyak jelantah. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan konsentrasi yang digunakan sebagai sumber karbon pada media serta spesies dan fisiologi bakteri yang digunakan.

Optimasi variasi pH media pertumbuhan menggunakan sumber karbon minyak jelantah pada konsentrasi 3% didasarkan dari hasil IE24 tertinggi pada penentuan konsentrasi sebelumnya. Media pertumbuhan bakteri diberi perlakuan pH pada kondisi asam, netral hingga basa. Produksi variasi pH dilakukan sama seperti variasi konsentrasi minyak jelantah yaitu hingga hari ke-6 (gambar 4). Hasil yang diperoleh dari pengukuran IE24 menunjukkan pengaruh pH yang memberikan nilai tertinggi pada bakteri *Brevundimonas terrae* adalah pH 7. Nilai pH 7 juga merupakan nilai pH optimal pada produksi biosurfaktan dari *Pseudomonas aeruginosa* yang ditumbuhkan pada medium minyak diesel (Ikhwani *et al.*, 2017).



Gambar 4. Grafik nilai IE24 dari Variasi pH pada bakteri *Brevundimonas terrae*

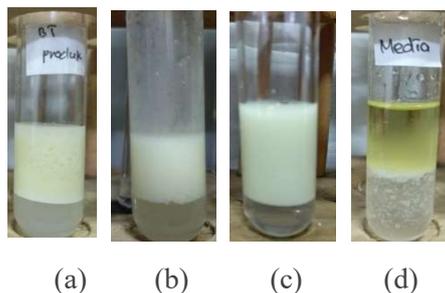
Produksi biosurfaktan dibuat sebanyak 100 mL media dengan konsentrasi *Brevundimonas terrae* 3% dan kondisi pH 7 dengan waktu produksi 1 hari. *Crude* biosurfaktan dari bakteri *Brevundimonas terrae* menghasilkan produk berwarna coklat, berbau minyak agak tengik (Gambar 5). Hal ini dapat terjadi karena proses fermentasi yang lama sehingga proses pengambilan nutrisi dari minyak semakin tinggi, biosurfaktan yang dihasilkan

semakin lengket dan berwarna coklat. Bau tengik berasal dari minyak yang digunakan sehingga diperlukan proses purifikasi lain untuk menghilangkan bau.



Gambar 5. *Crude* biosurfaktan *Brevundimonas terrae*

Produksi menunjukkan hasil 9,63 g/L. Supernatan bebas sel dan *crude* biosurfaktan hasil produksi dilakukan uji indeks emulsifikasi 24 jam (IE24) (Gambar 6). Nilai pengujian IE24 pada supernatan hasil produksi adalah 61,25%, dan *crude* nya adalah 46,43%.



Gambar 6. Indeks Emulsifikasi Biosurfaktan Hasil Produksi (a) *Crude Brevundimonas terrae*, (b) Supernatant *Brevundimonas terrae*, (c) Kontrol negatif (Media), (d) Kontrol positif (SLS 1%)

KESIMPULAN DAN SARAN / CONCLUSION

Konsentrasi minyak jelantah sebagai sumber karbon yang optimum dalam produksi biosurfaktan dari *Brevundimonas terrae* adalah 3% dengan pH media 7. Nilai indeks emulsifikasi 24 jam (IE24) supernatan biosurfaktan dari bakteri *Brevundimonas*

terrae nilai 61,25% hasil produksi sebanyak 9,63g/L

Perlu dilakukan optimasi dengan kondisi lain seperti suhu, jumlah inokulum dan kecepatan agitasi untuk memperoleh hasil produksi yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA / REFERENCE

- Agustina N. 2019. "Potensi Antibakteri dan Analisis Emulsifikasi Biosurfaktan dari Bakteri *Bacillus cereus* dan *Brevundimonas terra*". Skripsi. Jurusan Farmasi. Bandung : Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia
- Antunes F, Rocha T, Philippini R, Martiniano S, Prado C, Mier-Alba E, Hernandez-Perez A, Jofre F, Abdeshahian P, Ribeaux D, Castro-Alonso M, Balbino T, Dussan K, Da Silva D, De Souza J, Sanchez-Munoz S, Reyes-Guzman R, Ingle A, Felipe M, Santos J, Da Silva S. 2022. "The Potential of Vegetal Biomass for Biomolecules Production". *Comprehensive Renewable Energy*. Vol 5: 139-164 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819727-1.00053-4>
- Badan Standarisasi Nasional. 2012. "Standar Nasional Indonesia (SNI) 7709:2012 Minyak Goreng Sawit". Jakarta : BSN. Hal. 1-7
- Costa J, Treichel H, Santos L, Martin V. 2018. "Solid-State Fermentation for The Production of Biosurfactants and Their Application. Current Developments in Biotechnology and Bioengineering". *Current Advances in Solid-States Fermentation*. p357-372. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63990-5.00016-5>
- Md Badrul Hisham, Nurul H., Mohamad F. Ibrahim, Norhayati Ramli, and Suraini Abd-Aziz. 2019. "Production of Biosurfactant Produced from Used Cooking Oil by *Bacillus sp.* HIP3 for Heavy Metals Removal" *Molecules* 24, no. 14: 2617. <https://doi.org/10.3390/molecules24142617>
- Ikhwan A, Nurlaila H, Ferdina F, Fachria R, Hasa A, Yani M, Setyawati I, Suryani. 2017. "Preliminary study: optimization of pH and salinity for biosurfactant production from *Pseudomonas aeruginosa* in diesel fuel and crude oil medium". *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 58 (1). <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/58/1/012056>
- Mouafi F, Abo Elsoud M, Moharam M. 2016. "Optimization of Biosurfactant Production by *Bacillus brevis* using Response Surface Methodology". *Biotechnology Reports* 9: 31-37. <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2015.12.003>
- Oliveira JG, Garcia-Cruz CH. 2013. "Properties of a Biosurfactant Produced by *Bacillus pumilus* using Vinasse and Waste Frying Oil as Alternative Carbon Sources". *Braz. Arch. Biol. Technol.* 56(1): 155-160 <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000100020>
- Pathania, A.S., Jana, A.K. & Jana, M.M. "Valorization of waste frying oil to lipopeptide biosurfactant by indigenous *Bacillus licheniformis* through co-utilization in mixed substrate fermentation". 2021. *Braz. J. Chem. Eng.* <https://doi.org/10.1007/s43153-021-00170-x>

Pessione E, Garcia-Contreras R. 2021. “Non-Conventional Antimicrobial Agents”. *Reference Module in Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818731-9.00136-1>

Rengga, W ara Dyah P, Dody Herdian Riyadi, Ade Bintang, and Kuntoro. 2016. “Kajian Produksi Dan Proses Biosurfaktan Rhamnolipida Dari Limbah Industri Minyak Sawit Dan Turunannya Menggunakan *Pseudomonas aeruginosa*.” *Prosiding Seminar Nasional & Teknologi* 2 (1): 84–94.

Satpute, S.K., Płaza, G.A. and Banpurkar, A.G. 2017. “Biosurfactants’ production from renewable natural resources: Example of innovative and smart technology in circular bioeconomy”. *Manag Sys Prod Eng* 25, 46–54. <https://doi.org/10.1515/mspe-2017-0007>

Sopianti DS, Herlina, Saputra HT. 2017. Penetapan kadar Asam Lemak Bebas pada Minyak Goreng. *Jurnal Katalisator Kopertis Wilayah X*. 2(2): 101