



**LAPORAN HIBAH PENELITIAN
PROYEK DUE-LIKE BATCH III
TAHUN 2005**



LP 88/07
Nim
d

**DAYA HAMBAT BIOSURFAKTAN TERHADAP
PERTUMBUHAN MIKROBA PATOGEN : UPAYA MENGUNGKAP
APLIKASI PRODUK BIOSURFAKTAN BAKTERI SEBAGAI AGEN
ANTI MIKROBA DAN BOKONTROL FITOPATOGEN**



Oleh :
Dr. Ni'matuzahroh
Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes.
Drs. Agus Supriyanto, M.Kes.

008007191

PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA
DESEMBER 2005

**MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA**

**LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN HIBAH PENELITIAN PROYEK DUE-Like BATCH III**

- A. Judul** : Daya hambat biosurfaktan terhadap pertumbuhan mikroba patogen : Upaya mengungkap potensi biosurfaktan bakteri untuk agen anti mikroba dan biokontrol fitopatogen
- B. Ketua Peneliti**
- a. Nama : Dr. Ni'matuzahroh
 b. Jenis Kelamin : Perempuan
 c. Pangkat/Golongan : Penata Tk. 1/ IIC / 132011697
 d. Bidang Keahlian : Mikrobiologi
 e. Fakultas/Jurusan : Fakultas MIPA/Jurusan Biologi
 f. Perguruan Tinggi : Universitas Airlangga
 g. Tugas dalam Tim : Koordinasi penelitian dan produksi biosurfaktan
- C. Anggota Peneliti**
- Nama : Tu Nurliyati, S.Si, M Kes
 - Bidang Keahlian : Mikrobiologi Medis
 - Fakultas/Jurusan : Fakultas MIPA/Jurusan Biologi
 - Tugas dalam Tim : Karakterisasi mikroba uji
- Nama : Drs. Agus Supriyanto, M Kes
 - Bidang Keahlian : Mikrobiologi
 - Fakultas/Jurusan : Fakultas MIPA/Jurusan Biologi
 - Tugas dalam Tim : Uji daya hambat mikroba oleh biosurfaktan
- D. Sedang melakukan penelitian** : Iya tidak
- E. Pendanaan dan Jangka Waktu Penelitian :**
- Jangka waktu : 9 bulan
 - Biaya yang dibutuhkan : Rp. 30.000.000,- (Tiga puluh juta rupiah)
 - Biaya yang sudah diterima : Rp. 21.000.000,- (Dua puluh satu juta rupiah)

Surabaya, 2 Desember 2005

Mengetahui
Ketua Tim Hibah MIPA Unair

[Signature]
 Drs. H.A. Latief Burhan, MS
 NIP. 131128709

Ketua Peneliti

Dr. Ni'matuzahroh
 NIP. 132011697

Menyetujui,
Ketua Sekutif LRU DUE-Like
Universitas Airlangga

[Signature]
 Dr. Tiajiandari, Ph.D.
 NIP. 131801627

DAYA HAMBAT BIOSURFAKTAN TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROBA PATOGEN : UPAYA MENGUNGKAP POTENSI BIOSURFAKTAN BAKTERI UNTUK AGEN ANTI MIKROBA DAN BIOKONTROL FITOPATOGEN

Ni'matuzahroh, Tri Nurharyati, Agus Supriyanto,
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

ABSTRAK

Biosurfaktan merupakan senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang bersifat seperti surfaktan sehingga berpotensi untuk diaplikasikan dalam berbagai kegunaan industri dan lingkungan. Penelitian daya hambat biosurfaktan bakteri terhadap pertumbuhan mikroba patogen bertujuan untuk mengetahui prospek aplikasi produk biosurfaktan bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D hasil isolasi dari Kalt Donat Cilacap sebagai agen antimikroba dan agen biokontrol mikroba patogenik tanaman (fitopatogen).

Biosurfaktan diproduksi dengan cara menumbuhkan bakteri *Bacillus subtilis* 3KP pada substrat molase (tetes tebu) dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D pada substrat heksadekan (hidrokarbon). Biosurfaktan dipisahkan dari supernatan kultur dengan cara ekstraksi menggunakan amonium sulfat (*Bacillus subtilis* 3KP) dan pelarut etil asetat (*Pseudomonas aeruginosa* 1A7D). Biosurfaktan diujikan dalam bentuk produk kasar. Uji daya hambat biosurfaktan dilakukan terhadap mikroba patogen pada manusia dan tanaman (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Pseudomonas syringae* dan *Xanthomonas champestris*, *Fusarium solani*).

Kemampuan penghambatan pertumbuhan mikroba uji oleh biosurfaktan ditunjukkan dengan nilai diameter daerah hambatan pada media agar, nilai konsentrasi minimal penghambatan (MIC= *Minimal Inhibitory Concentration*), dan nilai konsentrasi minimal membunuh bakteri dan fungi (MBC – *Minimal Bactericidal Concentration* dan *MFC: Minimal Fungicidal Concentration*). Data yang didapatkan dianalisis secara diskriptif dengan cara membandingkan dengan hasil daya hambat produk biosurfaktan komersial dari hasil penelitian yang telah dipublikasikan di berbagai artikel ilmiah.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk biosurfaktan dari bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D mempunyai dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen manusia dan fitopatogen. Kemampuan penghambatan biosurfaktan berbeda-beda bergantung jenis bakteri dan konsentrasi biosurfaktan uji. Dari kisaran konsentrasi biosurfaktan yang diujikan (10.000 ppm untuk produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan 20.000 ppm untuk biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D) telah didapatkan nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) dengan nilai yang berbeda-beda bergantung jenis bakteri. Nilai MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) didapatkan pada biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D pada bakteri *Staphylococcus aureus*. Perbandingan data hasil uji daya hambat biosurfaktan bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D dengan produk komersial telah menunjukkan bahwa biosurfaktan kedua bakteri tersebut berpotensi untuk dikembangkan dan tergolong prospektif untuk dikomersialkan dan diajukan paten.

KATA PENGANTAR

Segala Puji bagi Allah Subhanallahu wa ta'ala, atas segala rahmat, hidayah serta karunia- Nya sehingga peneliti dapat menyelesaikan laporan penelitian ini. Penelitian tentang daya hambat biosurfaktan terhadap pertumbuhan mikroba patogen merupakan upaya peneliti untuk mengetahui potensi produk mikroorganisme sebagai salah satu sumber keanekaragaman hayati Indonesia sehingga dapat diungkap pemanfaatannya bagi kepentingan manusia (agen anti mikroba patogen) dan lingkungan (agen anti mikroba patogen pada tanaman)

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang ikut membantu pelaksanaan penelitian ini, yaitu

- 1) Proyek DUE Like Hatch III yang telah memberikan bantuan dana penelitian melalui aktifitas hibah penelitian.
- 2) Ketua Jurusan Biologi FMIPA Universitas Airlangga, Dra. Rosmani M.Kes, yang telah memberi izin penggunaan fasilitas tempat dan peralatan untuk digunakan selama penelitian.
- 3) Mahasiswa Biologi yang turut membantu selama penelitian yaitu Nur Qomariyah, Kimia Fuji Astuti, Lisa Agustina, Endah Sayekti, Ratih Maria Basuki, dan Shinta Agustina Larasati.
- 4) Mahasiswa/wi Prodi Kimia, Deni Kurniawan dan Hanif Yuliani atas bantuan dalam ekstraksi dan analisis produk biosurfaktan.
- 5) Karyawan Biologi, Suwami dan Eko Suyanto, atas bantuan persiapan kebutuhan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian.

Peneliti berharap agar penelitian ini dapat bermanfaat bagi yang membaca, dapat memberikan sumbangan yang berarti bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan dapat memberikan inspirasi bagi penelitian eksploratif lainnya.

Peneliti menyadari bahwa penelitian ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu, saran dan masukan sangat peneliti harapkan demi kebaikan laporan penelitian ini.

Surabaya, 2 Desember 2005

Peneliti

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	
1.1. Latar Belakang Permasalahan	1
1.2. Rumusan Masalah	3
BAB II TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	
2.1. Tujuan Penelitian	4
2.2. Manfaat Penelitian	4
BAB III TINJAUAN PUSTAKA	
3.1. Biosurfaktan, Jenis Biosurfaktan, dan Mikroba Penghasilnya	5
3.2. Potensi Biosurfaktan Sebagai Agen Antimikroba	6
3.3. Antimikroba dan Mekanisme Aktivitas Penghambatan Mikroba	11
3.4. Penentuan Efek Antimikroba	12
3.5. Biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i>	12
3.6. Biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LA7D	14
BAB IV METODE	
4.1. Persiapan Penelitian	16
4.2. Produksi Biosurfaktan Bakteri <i>Bacillus subtilis</i> 3KP dan Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LA7D	16
4.3. Ekstraksi dan Purifikasi Produk Biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP	17
4.4. Ekstraksi dan Purifikasi Produk Biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LA7D	18
4.5. Pengukuran Tegangan Permukaan Produk Biosurfaktan	19
4.6. Persiapan Peremajaan dan Pertumbuhan Mikroba Uji	19
4.7. Pembuatan Larutan Biosurfaktan	19
4.8. Uji Penghambatan Biosurfaktan Terhadap Pertumbuhan Mikroba Patogen	20
4.9. Analisis Data	21
4.10. Tahapan Penelitian	21
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1. Biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP	23
5.2. Biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> LA7D	28
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	

6.1 Kesimpulan	25
6.2 Saran	25
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	39



DAFTAR TABEL.

No.	Judul	Halaman
Tabel 3.1.	Jenis biosurfaktan dan mikroorganisme penghasil biosurfaktan	5
Tabel 3.2.	Potensi penghambatan terhadap mikroba dari surfaktan dan lichenysin A	7
Tabel 3.3.	Aktivitas antibiotik lipopeptida dari <i>Bacillus licheniformis</i> melawan yeast, bakteri, fungi pada uji penyebaran agar ..	8
Tabel 3.4.	Aktivitas anti-fungi Melundocandin (lipopeptida) dari <i>Aspergillus Sydowi</i>	8
Tabel 3.5.	Efek biosurfaktan jenis glikolipid dari <i>Taralipox capicola</i> IMFT pada pertumbuhan mikroba dalam uji pengenceran cawan	9
Tabel 3.6.	Aktivitas antimikroba Rhamnolipid (glikolipid) dari <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4712 (KL 4712)	10.
Tabel 3.7.	Karakteristik biosurfaktan dari berbagai spesies <i>Bacillus</i>	14
Tabel 5.1.	Data rata-rata diameter dan simpangan baku daya hambat biosurfaktan <i>Bacillus</i> terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia (<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i>) dan mikroba fitopatogenik (<i>Pseudomonas syringae</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> , <i>Fusarium solani</i>)	23
Tabel 5.2.	Data nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP setelah inkubasi 24 jam	25
Tabel 5.3.	Ringkasan respon pertumbuhan biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3 KP terhadap pertumbuhan enam mikroba patogen.....	27
Tabel 5.4.	Data rata-rata diameter dan simpangan baku daya hambat biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IATD terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia (<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i>) dan mikroba fitopatogenik (<i>Pseudomonas syringae</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> , <i>Fusarium solani</i>)	28
Tabel 5.5.	Data rata-rata jumlah koloni mikroba (CFU) dari sampel uji <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IATD terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia (<i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Candida albicans</i>) dan mikroba fitopatogenik (<i>Pseudomonas syringae</i> , <i>Xanthomonas campestris</i> , <i>Fusarium</i>	

solanii) dengan penambahan berbagai jenis konsentrasi biosurfaktan setelah 24 jam inkubasi.....30

Tabel 5.6. Ringkasan respon pertumbuhan biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D terhadap pertumbuhan enam mikroba patogen32

Tabel 5.7. Potensi penghambatan biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP (lipopeptida) dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D (glikolipid) terhadap mikroba patogen33



DAFTAR GAMBAR

No	Judul	Halaman
Gambar 3.1.	Struktur kimia rhamnolipid <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 4TF2	11
Gambar 3.2.	Struktur lipopeptida siklik surfaktan <i>Bacillus subtilis</i>	13
Gambar 4.1.	Skema diagram alir penelitian	21
Gambar 4.2.	Metode penentuan aktivitas antimikroba	22
Gambar 5.1.	Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia	24
Gambar 5.2.	Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP terhadap pertumbuhan mikroba patogen Tanaman (fitopatogen)	24
Gambar 5.3.	Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba patogen manusia pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP setelah inkubasi 24 jam.....	26
Gambar 5.4.	Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba fitopatogen pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP setelah inkubasi 24 jam.....	26
Gambar 5.5.	Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IA7D terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia.....	29
Gambar 5.6.	Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IA7D terhadap pertumbuhan fitopatogen	29
Gambar 5.7.	Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba patogen manusia pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IA7D setelah inkubasi 24 jam	31
Gambar 5.8.	Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba fitopatogen pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> IA7D setelah inkubasi 24 jam	31

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1. Data diameter daerah penghambatan pertumbuhan mikroba patogen dan mikroba fitopatogen dengan beberapa konsentrasi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D
- Lampiran 2. Diameter Daerah Penghambatan Pertumbuhan Mikroba Patogen dan Fitopatogen dengan Berbagai Konsentrasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP
- Lampiran 3. Data Nilai Log TPC (*Total Plate Count*) dan Visualisasi Dilusi dengan Berbagai Konsentrasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP Terhadap Mikroba Patogen dan Fitopatogen
- Lampiran 4. Data kekenyahan kultur mikroba patogen dan mikroba fitopatogen setelah 24 jam penambahan produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7d



BAB I PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

1.1. Latar Belakang permasalahan

Pemanfaatan produk mikroorganisme untuk berbagai kebutuhan manusia dan lingkungan semakin banyak diteliti akhir-akhir ini. Salah satu produk mikroorganisme yang potensial adalah biosurfaktan. Biosurfaktan merupakan senyawa amphipatik yang bersifat aktif permukaan (menurunkan tegangan permukaan) dan emulsifier (dapat mengemulsi). Biosurfaktan dapat dihasilkan oleh berbagai jenis mikroorganisme dari kelompok bakteri dan yeast (Desai and Banat, 1997). Jenis dan karakteristik biologis biosurfaktan bervariasi bergantung jenis mikroorganisme penghasil dan substrat pertumbuhannya. Biosurfaktan bisa juga diproduksi dari substrat yang murah sehingga prospektif untuk dikomersialkan. Berbagai kegunaan produk biosurfaktan yang mulai dikembangkan adalah untuk bioremediasi lingkungan, industri makanan dan kosmetik. Biosurfaktan juga dapat diaplikasikan dalam industri farmasi dan pertanian karena memiliki kemampuan sebagai bahan antibakteri atau antifungi, sehingga biosurfaktan dapat digunakan sebagai bahan antimikroba (Kleckner and Kosaric, 1993 dalam Haba *et al.*, 2002; Ron and Rosenberg, 2001).

Hasil eksplorasi terhadap potensi keanekaragaman hayati mikroorganisme oleh tim peneliti dari laboratorium mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Airlangga telah berhasil mendapatkan mikroba - mikroba potensial penghasil biosurfaktan (Ni'matuzahroh *et al.*, 2001; Nurhariyati, 2003).

Beberapa bakteri yang berhasil diteliti antara lain *Bacillus subtilis* 3KP yang dapat memproduksi biosurfaktan dari substrat molase dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D pada substrat heksadekan dan solar (Ni'matuzahroh *et al.*, 2003; Manggarsari, 2003; Agnita, 2003).

Hasil karakterisasi dan identifikasi terhadap produk biosurfaktan dari kedua jenis bakteri membuktikan bahwa biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP merupakan senyawa lipopeptida sedangkan biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D tergolong dalam kelompok glikolipida (Sulistiyani, 2003; Sasongko, 2003; Yuliani, 2004; Kurniawan, 2004). Potensi dua jenis biosurfaktan dari kelompok lipopeptida dan glikolipida untuk diaplikasikan dalam industri farmasi dan lingkungan sebagai agen antimikroba sudah

cukup dikenal. Beberapa produk biosurfaktan dari kelompok lipopeptida dan glikolipida merupakan produk paten dari berbagai negara industri seperti Amerika dan Jepang (Kosanic, 1993). Sedangkan belum ada produk paten biosurfaktan dari Indonesia. Data pendukung yang menguatkan pentingnya mengungkap potensi anti mikroba kedua produk biosurfaktan dari *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D adalah berbedanya jenis biosurfaktan dari kedua bakteri tersebut dengan produk yang sudah ada seperti surfaktan (untuk kelompok lipopeptida) dan dari data hasil publikasi untuk kelompok glikolipida. (Ni'matuzahroh *et al.*, 2003, Yuliani, 2004; Kurniawan, 2004). Hasil penelitian ini akan sangat semakin menguatkan ditemukannya jenis senyawa baru biosurfaktan dari bakteri Indonesia dan berpeluang untuk dikomersialisasikan.

Uji daya hambat biosurfaktan terhadap pertumbuhan mikroba berperan penting dalam mengungkap potensi aplikasi biosurfaktan dalam berbagai bidang (industri: a) dalam bidang farmasi, biosurfaktan diharapkan dapat diaplikasikan untuk agen anti mikroba patogen pada manusia seperti (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*) sehingga berpeluang digunakan sebagai antimikroba dan antibiotik; b) bidang pertanian, biosurfaktan digunakan untuk pengendalian hayati dengan menghambat pertumbuhan mikroba patogen tanaman seperti *Fusarium solani* patogen pada tanaman dari suku Solanaceae dan *Xanthomonas campestris* (patogen pada padi, kedelai, kubis, dan huncis), dan c) upaya bioremediasi lingkungan, biosurfaktan diharapkan tidak bersifat membunuh toksisitasnya rendah terhadap keanekaragaman mikroba potensial pendegradasi limbah pencemar sehingga bersifat ramah lingkungan.

Kehandalan produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D sebagai agen antimikroba diketahui dari nilai diameter daerah hambatan pertumbuhan (halo) di media agar, nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) yang merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba dan nilai MBC/MFC (*Microbial Bactericidal Concentration / Minimal Fungicidal Concentration*) yaitu konsentrasi minimal yang dapat membunuh bakteri / fungi. Data yang didapat akan dibandingkan dengan data hasil penelitian produk biosurfaktan komersial dan data biosurfaktan bakteri yang dipublikasikan di berbagai artikel ilmiah.

Uji daya hambat biosurfaktan bakteri *Bacillus subtilis* 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D terhadap pertumbuhan berbagai mikroba patogen baik pada manusia dan tanaman merupakan langkah awal untuk mengetahui pemanfaatan kedua produk biosurfaktan tersebut. Disamping itu, dengan terungkapnya potensi biosurfaktan *Bacillus*

subtilis 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IATD akan memberikan alternatif pemanfaatan substrat limbah tetes tebu (molase) dan hidrokarbon (heksadekan) sebagai media produksi biosurfaktan.

1.2. Rumusan Masalah

- 1) Apakah biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IATD dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen manusia (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*) dan mikroba patogen tanaman (*Xanthomonas chumpestris*, *Pseudomonas syringae* dan *Fusarium solani*) ?
- 2) Berapakah nilai MIC/ MBC/ MFC produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IATD terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Xanthomonas chumpestris*, *Pseudomonas syringae* dan *Fusarium solani*.
- 3) Bagaimana kemampuan penghambatan biosurfaktan dan *Bacillus subtilis* 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IATD bila dibandingkan dengan produk biosurfaktan komersial hasil penelitian dari berbagai literatur ?

BAB II

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

2.1. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1) Menguji kemampuan penghambatan biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* (A7D) terhadap mikroba patogen manusia (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*) dan mikroba patogen tanaman (*Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas syringae* dan *Fusarium solani*)
- 2) Mendapatkan nilai MIC, MBC atau MPC produk biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* (A7D) dan *Bacillus subtilis* 3 KP terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Xanthomonas campestris*, *Pseudomonas syringae* dan *Fusarium solani*
- 3) Membandingkan aktivitas penghambatan mikroba dan produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* (A7D) dengan produk biosurfaktan komersial hasil penelitian dari berbagai literatur sehingga bisa diketahui prospek dari biosurfaktan Indonesia sebagai bahan pertimbangan untuk diajukan paten.

2.2. Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapatkan dalam penelitian ini, yaitu :

- 1) Terungkapnya potensi biosurfaktan bakteri *Bacillus subtilis* 3 KP dan *Pseudomonas aeruginosa* (A7D) hasil isolasi dari perairan Kali Donan Cilacap untuk dijadikan agen antimikroba dan pengendalian hayati
- 2) Ditemukannya alternatif baru pemakaian agen antimikroba dan pengendalian hayati dari produk bakteri hasil isolasi dari perairan di Indonesia dan diharapkan akan berpeluang untuk diajukan paten
- 3) Penemuan pemanfaatan lain dari substrat molase dan heksadekan sebagai media produksi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* (A7D)
- 4) Peningkatan pengembangan riset di bidang eksplorasi potensi mikroorganisme dari Indonesia
- 5) Menunjang payung penelitian di laboratorium Mikrobiologi yang berorientasi pada "eksplorasi potensi mikroorganisme untuk lingkungan dan industri" di Jurusan Biologi FMIPA Unan

BAB III

TINJAUAN PUSTAKA

3.1. Biosurfaktan, Jenis Biosurfaktan, dan Mikroba Penghasilnya

Biosurfaktan adalah molekul yang bersifat amfipatik, yang terdiri dari komponen hidrofilik dan hidrofobik (Koch *et al.*, 1991). Gugus hidrofilik (polar) berupa karbohidrat, asam amino, peptida siklik, fosfat, asam karboksilat, alkohol, dll (Desai and Banat, 1997). Sedang gugus hidrofobik (non polar) umumnya berupa rantai hidrokarbon dari asam lemak (Koch *et al.*, 1991)

Komposisi kimia biosurfaktan sangat bervariasi, meliputi glikolipid, lipopeptida, asam lemak, fosfolipid, lipoprotein, kompleks lemak-polisakarida, kompleks protein-polisakarida. Jenis biosurfaktan bergantung pada strain, substrat dan kondisi pertumbuhan (Bertrand *et al.*, 1994; Desai and Banat, 1997). Jenis biosurfaktan dan mikroba penghasil biosurfaktan disajikan pada tabel 3.1.

Struktur molekul biosurfaktan yang disintesis setiap mikroba berbeda-beda. Semuanya berpotensi meningkatkan usaha perbaikan lingkungan dan digunakan untuk proses emulsifikasi (Desai and Banat, 1997). Sifat fisika dan kimia, penurunan tegangan permukaan dan stabilitas emulsifikasi sangat penting dalam pemilihan biosurfaktan potensial (Desai and Banat, 1997).

Tabel 3.1. Jenis Biosurfaktan dan Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan

Jenis Biosurfaktan	Mikroorganisme
Glycolipid	
• Rhamnolipid	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
• Trehalolipid	<i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>Mycobacterium sp.</i> <i>Mycobacterium paraffinicum</i>
• Sophorolipid	<i>Torulopsis bombicola</i> <i>Torulopsis apicola</i> <i>Torulopsis petrophilum</i>

Lipopeptida dan lipoprotein <ul style="list-style-type: none"> • Peptida-lipid • Viscosin • Surfactin • Subtilisin • Gramicidin • Polymyxin 	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus brevis</i> <i>Bacillus polymyxa</i>
Asam lemak dan fosfolipid <ul style="list-style-type: none"> • Asam lemak • Fosfolipid 	<i>Corynebacterium lepus</i> <i>Thiobacillus thiooxidans</i>
Biosurfaktan Partikulat <ul style="list-style-type: none"> • Vasikula membran • Fimbriae • Seluruh bagian sel 	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Herbagai jenis mikroba</i>

(Desai and Banat, 1997).

3.2. Potensi Biosurfaktan sebagai Agen Antimikrobia

Biosurfaktan dihasilkan oleh mikroorganisme dari berbagai varietas dan masing-masing biosurfaktan juga memiliki tingkat kemampuan yang berbeda (Umezawa *et al.*, 1978 dalam Jenny *et al.*, 1991). Salah satu kemampuan biosurfaktan adalah sebagai bahan/agen antimikroba karena komponen hidrofobiknya. Selama lima belas tahun terakhir, biosurfaktan diketahui memiliki potensi untuk menggantikan surfaktan sintetik. Surfaktan sintetik umumnya dapat meningkatkan permeabilitas membran biologis. Surfaktan diketahui memiliki aktivitas antibakteri dengan menghasilkan bahan intraseluler atau menghambat respirasi. Pada umumnya, surfaktan tampak kurang toksik dan lebih mudah menyerang bakteri Gram-positif daripada bakteri Gram-negatif karena perbedaan struktur dinding selnya. Protein dan lipopolisakarida yang menyusun dinding sel bakteri Gram-negatif mampu berikatan dengan komponen surfaktan sehingga surfaktan lebih sulit menyerang bakteri tersebut dan membran sel dapat terlindung dari serangan surfaktan. Biosurfaktan yang paling banyak dipelajari sebagai agen antimikroba adalah dari kelompok lipopeptida dan glikolipid (Kosaric, 1993 ; Lang *et al.*, 1996, Bari *et al.* 2004). Jenis glikolipid dan lipopeptida sering digunakan sebagai bahan aditif makanan dan kosmetik (Juwarkar *et al.*, 1994).

Biosurfaktan dari kelompok lipopeptida banyak dihasilkan oleh genus *Bacillus*. Genus *Bacillus* mempunyai 2 jenis struktur lipopeptida yang dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* dan *Bacillus subtilis*. Keduanya mempunyai sifat antimikroba yang sama misalnya pada kelompok antibiotik peptida dari lipopeptida (iturin, mycosubtilin,

baeilomycin) dari *Bacillus licheniformis* menunjukkan kesamaan struktur dengan kelompok laktone (seperti surfaktin, polipeptin) dari *Bacillus subtilis*. Perbedaan keduanya hanya terdapat pada struktur C terminal asam amino (leucine diganti dengan isoleucine) dengan komposisi dari lipophilik pada surfaktin. Data dalam tabel 3.2. menyajikan aktivitas penghambatan jenis bisurfaktan yang dihasilkan oleh *Bacillus subtilis* (surfaktin) dan *Bacillus licheniformis* (Lichenysin A).

Tabel 3.2. Potensi Penghambatan terhadap Mikroba dari Surfaktin dan Lichenysin A

Makroorganisme	Diameter halo		
	Surfaktin	Produk kasar	Produk murni
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	+++	++	+
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	+++	++	+
<i>Bacillus cereus</i>	+++	-	-
<i>Bacillus licheniformis</i> BASSO	+++	-	-
<i>Bacillus sp. Strain ATCC 39307</i>	++	+	-
<i>Bacillus subtilis</i>	++	++	+
<i>Escherichia coli</i>	++	++	++
<i>Enterobacter sp strain 306</i>	++	+	+
<i>Pseudomonas fluorescense</i>	+++	++	++
<i>Pseudomonas proteofactens</i>	++	+	++
<i>Rhodococcus globerulus</i>	+++	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	+++	+	+

(Yakimov et al., 1995)

-, < 5 mm, +, 6 - 7 mm; ++, 8 - 9 mm; +++, 10 - 11 mm, ++++, > 11 mm.

Bacillus subtilis mampu menghasilkan biosurfaktan surfaktin sebagai biokontrol hayati fitopatogen. Hal ini dapat dideteksi dengan pemotongan gen yang mensintesis surfaktin pada *Bacillus subtilis* melawan mikroba uji. Hasil yang ditunjukkan adalah negatif yang berarti surfaktin mampu digunakan sebagai antimikroba fitopatogen (Bais et al., 2004). Pemberian surfaktin dapat meningkatkan aktivitas antifeeding dalam menyerang *Trichophyton mentagrophytes*, *Fusarium sp* dan *Xanthomonas sp.* dll (Lang et al., 1996; Bais et al., 2004). Nilai MIC dari masing - masing mikroba berbeda yaitu 75 µg/ml. untuk *Fusarium sp.* dan 25 µg/ml. untuk *Xanthomonas sp.* (Lang et al., 1996; Bais et al., 2004) (Lang and Wagner dalam Kosaric, 1993).

Bacillus licheniformis dapat menghasilkan biosurfaktan jenis lipopeptida lichenysin A. yang mempunyai kemampuan hampir sama dengan *Bacillus subtilis*. Lipopeptida dari

Bacillus licheniformis mempunyai aktifitas biologi / antimikroba dalam melawan yeast, bakteri, dan fungi / kapang (tabel 3.3) (Jenny *et al.*, 1991; Yakimov *et al.*, 1995)

Tabel 3.3. Aktivitas antibiotik lipopeptida dari *Bacillus licheniformis* melawan yeast, bakteri, dan fungi pada uji penyebaran agar

Mikroorganisme	Media Uji	Suhu (°C)	MIC ^b (mg/ml)	MIC ^c (mg/ml)	Daerah Penghambatan ^d
<i>B. licheniformis</i>	LB	37	0,5	-	++
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	LB	30	1,0	-	+++
<i>Escherichia coli</i>	LB	37	1,0	0,5	+++
<i>Candida utilis</i>	YPED	30	1,0	0,1	+++
<i>C. tropicalis</i>	YPED	30	1,0	0,1	+++
<i>Trichosporon citrinum</i>	YPED	30	10,0	-	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	YPED	30	5,0	0,1	++
<i>Trichoderma reesei</i>	MEA	30	0,5	0,1	++
<i>Penicillium oxalicum</i>	MEA/PDA	30	0,1	-	+++

(Jenny *et al.*, 1991)

^aMIC: Minimal Inhibitory Concentration, melawan mikroorganisme selama fase eksponensial

^bMIC: melawan mikroorganisme selama penurunan dan kematian

^dDiameter maksimum halo: ++ - 7-10 mm, +++ - 11-14 mm, ++++ - 15-18 mm, +++++ - >18 mm

Biosurfaktan jenis lipopeptida juga dihasilkan oleh mikroorganisme lain seperti : Viscosin, merupakan jenis biosurfaktan dari kelompok lipopeptida yang diisolasi dari *Pseudomonas viscosa* sebagai agen antimikrobakteri dan antivirus dan Mulundocandin yang merupakan lipopeptida yang diisolasi dari kultur cair *Aspergillus sydowi* juga telah ditemukan memiliki bahan anti yeast dan antifungi. Pada tabel 3.4. ditunjukkan nilai MIC biosurfaktan mulundocandin dalam menghambat berbagai strain fungi (yeast dan kapang) (Lang and Wagner dalam Kosaric, 1993).

Tabel 3.4. Aktivitas antifungi Mulundocandin (lipopeptida) dari *Aspergillus sydowi*

Organisme Uji	MIC (µg/ml)
<i>Candida albicans</i> 200/175	0,97
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10
<i>Penicillium italicum</i>	>1,000
<i>Aspergillus niger</i> 500/284	31,25
<i>Cercospora beticola</i>	4
<i>Fusarium nivale</i>	>1,000
<i>Botrytis cinerea</i>	125

<i>Trichophyton mentagrophytes</i> 100/25	>125
<i>T. rubrum</i> 100/58	>125
<i>Microsporum gypseum</i>	4
<i>M. canis</i> 150/353	>125

(Lang and Wagner dalam Kosaric, 1993)

Selain lipopeptida, glikolipid juga mempunyai kemampuan sebagai bahan antimikroba. Menurut Lang *et al.* dalam Kosaric (1993), glikolipid yang dihasilkan oleh mikroba dari berbagai varietas kebanyakan mempunyai aktifitas antibiotik terhadap fungi, bakteri Gram-positif dan bakteri Gram-negatif. Sebagai contoh adalah surfaktan, biosurfaktan jenis glikolipid yang diisolasi dari media kultur *Torulopsis apicola*, memiliki efek antibiotik terutama pada bakteri Gram-positif (tabel 3.5.). Begitu juga dengan glikolipid (rhamnolipid) yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* 4712 dengan struktur kimia seperti pada gambar 4.1 Biosurfaktan dari jenis rhamnolipid (RL₄₇₁₂) tersebut mampu menghambat pertumbuhan beberapa jenis mikroba dengan konsentrasi yang berbeda-beda, diantaranya bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (32 µg/ml), *Escherichia coli* ATCC 8739 (64 µg/ml), dan *Candida albicans* ATCC 10231 (-256 µg/ml) dari kelompok yeast (tabel 3.6.) (Haba *et al.*, 2002).

Tabel 3.5. Efek biosurfaktan jenis glikolipid dari *Torulopsis apicola* IMET pada pertumbuhan mikroba dalam uji pengenceran cawan

Mikroorganisme	MIC (µg/ml)
<i>Acetobacter calcoaceticus</i> 69 V	>31,3
<i>Azotobacter chroococcum</i>	1,95
<i>Bacillus subtilis</i>	0,12
<i>Corynebacterium fascians</i> IMET 10513	1,95
<i>Micrococcus luteus</i>	0,48
<i>Mycobacterium rubrum</i> B4a	0,12
<i>Mycobacterium lacticola</i>	0,12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 196 Aa	7,8
<i>Proteus vulgaris</i>	>31,3
<i>Escherichia coli</i>	7,8
<i>Serratia marcescens</i>	1,95
<i>Plectonema boryanum</i>	0,12

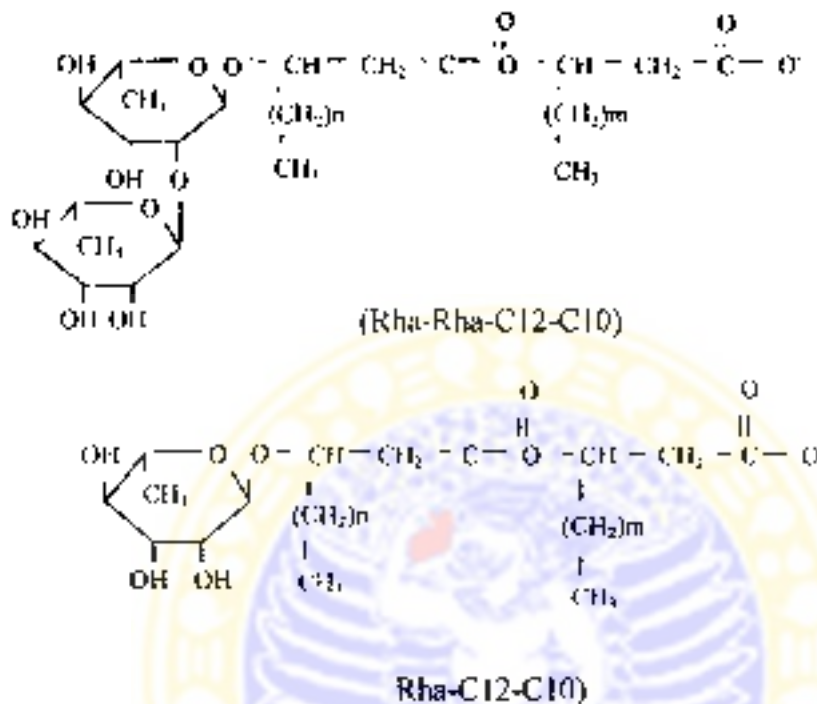
(Lang and Wagner dalam Kosaric, 1993)

Tabel 3.6. Aktivitas antimikroba Rhamnolipid (glikolipid) dari *Pseudomonas aeruginosa* 4712 (RL₄₇₁₂)

Mikroorganisme	MIC ($\mu\text{g/ml}$)
Gram-negatif	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	128
<i>Proteus mirabilis</i> CECT 170	>256
<i>Enterobacter aerogenes</i> CECT 689	4
<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	64
<i>Serratia marcescens</i> CECT 274	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i> CECT 17832	0,5
<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 8750	64
<i>Citrobacter freundii</i> ATCC 22636	64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	256
<i>Bordetella bronchiseptica</i> ATCC 461	128
Gram-positif	
<i>Arthrobacter oxydans</i> ATCC 8010	128
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	32
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	32
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>mycoide</i> ATCC 11778	64
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	16
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9631	64
<i>Mycobacterium phlei</i> ATCC 41423	128
<i>Clostridium perfringens</i>	128
Yeast	
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	>256
<i>Rhizotorula rubra</i> CECT 1158	>256
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	>256
Fungi	
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 14604	>256
<i>Chaetomium globosum</i> ATCC 6205	64
<i>Penicillium chrysogenum</i> CECE 2802	>256
<i>Penicillium funiculosum</i> CECE 2914	16
<i>Aureobasidium pullulans</i> ATCC 9348	>256
<i>Gliocladium virens</i> ATCC 4645	32
<i>Botrytis cinerea</i>	170
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	276
<i>Rhizoctonia solani</i>	109
<i>Fusarium solani</i>	75

(Haba *et al.*, 2002)

Biosurfaktan yang dihasilkan oleh strain lokal *Pseudomonas aeruginosa* JA7d pada heksadekana sebagai substrat pertumbuhannya juga merupakan biosurfaktan dari jenis glikolipid (rhamnolipid) (Kurniawan, 2004). Sehingga biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* JA7d diduga memiliki aktivitas antimikroba.



Gambar 3.1. Struktur kimia rhamnolipid *Pseudomonas aeruginosa* 47T2
(Haba *et al.*, 2002)

3.3. Antimikroba dan Mekanisme Aktivitas Penghambatan Mikroba

Antimikroba adalah bahan kimia alami atau sintetik yang dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Antimikroba tidak hanya menyebabkan tidak aktifnya suatu enzim tetapi juga dapat menyebabkan kerusakan sel, misalnya lisis yang disebabkan oleh *surface active agent*. Senyawa antimikroba dapat juga menyebabkan pembekuan protein sehingga mikroba tidak mungkin lagi berkembangbiak. Sedangkan aktivitas mikroba yang dapat diamati secara langsung adalah perkembangbiakannya (Madigan *et al.*, 2000)

Mekanisme daya kerja antibiotik terhadap sel antara lain merusak dinding sel, mengganggu permeabilitas sel, merusak molekul protein dan asam nukleat. Kecepatan dan efisiensi kerusakan mikroba oleh senyawa antimikroba dipengaruhi oleh suhu, pH, waktu, konsentrasi dan adanya komponen organik lainnya. Penggunaan suatu senyawa

antimikroba secara tepat harus mempertimbangkan pengaruh kondisi lingkungan tersebut (Muslimin, 1995).

Selain faktor diatas menurut Pelczar dan Chan (1988) faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antimikroba yaitu : Konsentrasi zat antimikroba, jumlah mikroorganisme, suhu, dan spesies mikroorganisme. Selain kondisi lingkungan, strain mikroba yang berbeda akan mempunyai sensitivitas yang berbeda pula terhadap senyawa antimikroba (Muslimin, 1995). Potensi penghambatan senyawa antimikroba dapat diuji dengan penentuan nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) yaitu konsentrasi terendah yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) atau MFC (*Minimal Fungicidal Concentration*) yang merupakan konsentrasi terendah yang digunakan untuk membunuh mikroba (Salle, 1967).

3.4. Penentuan Efek Antimikroba

Menurut Bailey dan Scott (1994) untuk mengetahui efek antibakteri secara invitro dapat dilakukan beberapa cara, yaitu:

1. Metode penyebaran (*diffusion method*)
 1. Metode cakram kertas (*paper diffusion method*)
 2. Metode cangkir agar (*agar cup method*)
 3. Metode cairan dalam cincin (*ring plate method*)
2. Metode pengenceran (*Dilution method*)
 1. Metode pengenceran obat dalam agar (*agar dilution method*)
 2. Metode pengenceran obat dalam tabung (*tube dilution method*)

Metode yang sering digunakan untuk penentuan efek antibakteri adalah metode cakram kertas, dan metode cangkir agar (Salle, 1967). Metode cakram kertas sering digunakan di beberapa laboratorium di Amerika karena metode tersebut mudah, tidak mahal dan menunjukkan hasil yang berkorelasi langsung dengan MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) (Bailey and Scott, 1994).

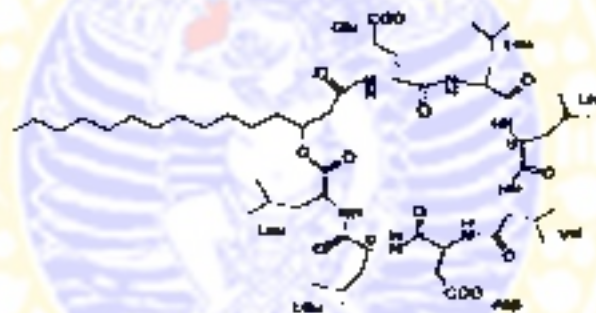
3.5. Biosurfaktan *Bacillus subtilis*

Bacillus mampu memproduksi biosurfaktan jenis lipopeptida sebagai produk ekstraseluler. Sedikit sekali penelitian yang membahas tentang fungsi lipopeptida sebagai senyawa aktif permukaan dan fisiologi sel *Bacillus* dalam memproduksi biosurfaktan (Jenny *et al.*, 1993 dalam Kosaric, 1993)

Surfaktan merupakan biosurfaktan jenis lipopeptida yang dihasilkan *Bacillus subtilis*. Surfaktan mampu menurunkan tegangan permukaan media sebesar 40 dyne/cm sehingga diketahui kehandalan dari produk tersebut (Makkar and Cameotra, 1997)

Karakter fisik lipopeptida dipengaruhi pH dan temperatur. Temperatur pada kisaran 20 – 60°C tidak memperlihatkan perubahan nilai tegangan permukaan. Aktivitas lipopeptida berada pada kisaran pH 5 – 9 dibawah dan diatas nilai pH kisaran tersebut dapat menurunkan aktivitasnya (Jenny *et al.*, 1993 dalam Kosaric, 1993)

Biosurfaktan memiliki banyak kehandalan dikarenakan komponen lipopeptida dapat berfungsi sebagai senyawa aktif permukaan dan antibiotik (Hommel *et al.*, 1987) Lipopeptida siklik dari *Bacillus subtilis* (gambar 3.2) dikenal mempunyai efektifitas yang tinggi (Cooper and Jazic, 1980). Surfaktan mampu mereduksi tegangan permukaan air menjadi 27 mNm dengan konsentrasi produk murni 20 mg/l (Kludge *et al.*, 1998)



Gambar 3.2. Struktur lipopeptida siklik surfaktan *Bacillus subtilis* (Cooper and Jazic, 1980)

Karakteristik aktivitas lipopeptida dari *Bacillus licheniformis* dipengaruhi pH dan temperatur. Lipopeptida pada kisaran suhu 20°C – 60°C tidak memperlihatkan perubahan sifat aktif permukaan. Aktivitas lipopeptida baik pada kisaran pH 5-9. Di bawah dan di atas kisaran nilai pH tersebut dapat menurunkan sifat aktif permukaannya (Jenny *et al.*, 1993 dalam Kosaric, 1993).

Setiap spesies *Bacillus* memiliki karakteristik biosurfaktan yang spesifik, karena bagian hidrofobik dari molekul amfifilik dibentuk oleh asam lemak yang percabangan dan panjang rantainya berbeda satu dengan spesies yang lain. Cabang yang mengandung gugus asam lemak akan berikatan dengan cabang yang mengandung gugus asam amino (Finnerty, 1989 dalam Kosaric, 1993). Bagian hidrofilik dari molekul amfifilik umumnya berupa peptida siklik yang mengandung tujuh asam amino (Jenny *et al.*, 1993 dalam Kosaric,

1993). Karakteristik biosurfaktan yang diproduksi oleh beberapa bakteri dari genus *Bacillus* tertera dalam Tabel 3.7.

Tabel 3.7. Karakteristik biosurfaktan dari berbagai spesies *Bacillus* (Desai and Banat, 1997; Kosario, 1993)

Mikroba	Biosurfaktan	Tegangan Permukaan (dyne/cm)	CMC (mg/l)	Tegangan Antar Permukaan (dyne/cm)
<i>B. subtilis</i>	Surtaktin	27-32	23-160	1
<i>B. licheniformis</i> BAS 50	Lichenysin A	28	12	-
<i>B. pumilis</i>	-	32	-	-
<i>B. laterosporus</i>	Peptida-lipida	32	-	-
<i>B. subtilis</i> MTCC 2423	Surfaktin	28	35	-
<i>B. licheniformis</i>	Peptida-lipida	27	12-20	0,1-0,3

Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP

Bakteri *Bacillus subtilis* 3KP merupakan bakteri hasil isolasi dari perairan Kali Donan Cilacap Jawa Tengah (Ni'matuzahroh *et al.*, 2002). Bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dapat menghasilkan biosurfaktan ketika ditumbuhkan pada substrat karbohidrat seperti molase dan sukrosa. Produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP didapatkan dengan presipitasi dingin menggunakan amonium sulfat (60% jenuh).

Produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP hasil isolasi dari perairan Kali Donan Cilacap - Jawa Tengah yang ditumbuhkan pada substrat molase tergolong dalam jenis lipopeptida. Pada konsentrasi 2 g/l mampu menurunkan tegangan permukaan menjadi 30 mN/m. Biosurfaktan ini memiliki kemampuan yang handal dalam mengemulsi solar dan kerosin dengan stabilitas yang tinggi. Perubahan temperatur antara 25 - 70 °C, perubahan pH pada kisaran 4 - 8 dan perubahan konsentrasi garam antara 0 - 4 M tidak mempengaruhi nilai tegangan permukaannya. Hasil identifikasi produk biosurfaktan menunjukkan bahwa biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP memiliki struktur yang berbeda dengan surfaktin.

3.6. Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D

Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* IA7D mampu tumbuh pada hidrokarbon baik alifatik maupun aromatik. Dari hasil penelitian didapatkan produksi biosurfaktan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* IA7D pada substrat heksahekan dan solar (Ni'matuzahroh *et al.*, 2002). Produksi biosurfaktan merupakan mekanisme bakteri ini dalam mengasimilasi

hidrokarbon (Ni'matuzahroh *et al.*, 2002). Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D pada heksadekan dan solar bersifat emulsifier (agen pengemulsi) dengan kemampuan mengemulsi bergantung jenis hidrokarbon uji. Biosurfaktan ini juga bersifat aktif permukaan karena mampu menurunkan tegangan permukaan kultur 20 mN/m dalam waktu inkubasi 21 hari. Produksi biosurfaktan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* LA7D pada substrat heksadekan hasil ekstraksi etil asetat mencapai 2,3 g/l produk kasar dan mempunyai nilai CMC 1,5 gram/l (Ni'matuzahroh *et al.*, 2003). Hasil pemurnian diperoleh produk murni 20 mg dalam 2,3 g/l produk kasar (Kurniawan, 2004).

Berdasarkan hasil analisis kimia, komponen penyusun biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D dari substrat heksadekan adalah karbohidrat (gula) dan lipid, sehingga tergolong dalam kelompok glikolipida (Sulistyanr, 2003). Sedangkan produk biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D dari substrat solar mengandung protein, gula dan lipid (Utami, 2004). Diduga jenis biosurfaktan dari bakteri tersebut berbeda (Ni'matuzahroh *et al.*, 2003). Van Dyke *et al.*, (1993) menguraikan bahwa produk biosurfaktan yang dihasilkan *Pseudomonas* pada substrat heksadekan adalah jenis rhamnolipid. Keanekaragaman jenis rhamnolipid didapatkan pada jenis biosurfaktan *Pseudomonas* dengan spesies yang berbeda.

Hasil identifikasi produk murni biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D dari substrat heksadekan mengarahkan pada jenis biosurfaktan rhamnolipid dengan gugus hidrofil berupa gula rhamnosa dan gugus hidrofob berupa 4 macam asam lemak jenuh (asam dodekanoat, asam tetradekanoat, asam heksadekanoat, dan asam oktadekanoat).

BAB IV

METODE PENELITIAN

Penelitian secara umum dapat dibagi menjadi beberapa tahapan, yaitu persiapan penelitian, produksi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dari molase dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D dari heksadekan, ekstraksi produk biosurfaktan, pemurnian produk biosurfaktan, peremajaan mikroba uji (bakteri, yeast, dan kapang), pertumbuhan mikroba uji pada media spesifik, uji daya hambat mikroba oleh biosurfaktan, penentuan nilai MIC dan MBC, pengumpulan data, analisis data. Adapun prosedur yang dilakukan pada setiap tahapan diuraikan sebagai berikut

4.1. Persiapan Penelitian.

Dalam tahap persiapan penelitian, aktivitas yang dilakukan adalah mempersiapkan segala sesuatu, khususnya terkait dengan: koordinasi dan konsolidasi tim peneliti, penyediaan mikroba, bahan penelitian khususnya media spesifik untuk pertumbuhan mikroba uji (bakteri, yeast, dan kapang), serta persiapan semua peralatan penelitian.

4.2. Produksi biosurfaktan bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* IA7D

Produksi biosurfaktan bakteri dilakukan dengan membuat kultur bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D dalam media cair mengandung garam mineral dan 2% (w/v) substrat pertumbuhan yang berbeda. *Bacillus subtilis* 3KP ditumbuhkan pada substrat molase sedangkan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D pada heksadekan

Komposisi air mineral yang digunakan untuk menumbuhkan kedua bakteri tersebut berbeda yaitu : 1) Modifikasi media Guerra Santos (1984) untuk produksi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dengan komposisi sebagai berikut: a) makroelemen (g/l) : NaCl (10), KH_2PO_4 (0,034), K_2HPO_4 (0,069), KCl (1,1), MgSO_4 (0,44), $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (0,055) dan NaN_3 (2,75); b) mikroelemen (mg/l) : $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (0,55), ZnSO_4 (1,65), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1,65), $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (0,166), $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (0,166), H_3BO_3 (0,33), NaMoO_4 (0,11) dan 2) modifikasi Comcoetra dan Pruthi (1997) untuk produksi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D dengan komposisi media sebagai berikut a) makroelemen (g/l) : NaCl (10), KH_2PO_4 (2), K_2HPO_4 (5), MgSO_4 (0,44), CaCl_2 (0,01) dan NH_4SO_4 (3); b)

mikroelemen (mg/l) $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (0.604), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (1), $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (1), $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ (1), $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ (5), H_3BO_3 (1), NaMoO_4 (1). Media air mineral diatur pH sampai 7.

Suspensi bakteri yang telah ditumbuhkan terlebih dahulu dalam media nutrisi broth pada fase logaritmik, dimasukkan sebanyak 2% (v/v) ke dalam masing-masing media produksi steril dan telah ditambahkan fosfat dan Fe yang disterilkan secara terpisah. Kultur bakteri diinkubasi dengan cara digoyog di shaker inkubator dengan agitasi 90 rpm, pada suhu 37 °C selama 10 hari untuk kultur *Bacillus subtilis* 3KP dan 14 hari untuk kultur bakteri *Pseudomonas aeruginosa* IA7D.

Inkubasi dihentikan setelah kultur bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D mencapai penurunan tegangan permukaan sebesar 20 mN/m sebagai bukti diproduksinya biosurfaktan dalam kultur pertumbuhan.

4.3. Ekstraksi dan purifikasi produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP

Sel bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dipisahkan dari medium yang mengandung surfaktan dengan sentrifugasi (6000 rpm, 25 menit, 27°C). Ekstraksi biosurfaktan dari supernatan kultur dengan cara pengendapan menggunakan amonium sulfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) kadar tinggi (*salt out*) secara fraksinasi bertingkat untuk mengurangi aktivitas air sehingga senyawa aktif permukaan yang semula larut dalam air akan terendapkan. Fraksinasi dilakukan dengan amonium sulfat 20 %, 40 %, 60 % jenuh.

Supernatan kultur dengan volume 200 ml dimasukkan dalam Erlenmeyer dan direndam dengan penangas es. Kemudian dimasukkan sejumlah amonium sulfat secara perlahan sambil diaduk dengan pengaduk magnet, sampai kadar amonium sulfat mencapai 20 % jenuh (113 g/l). Pengadukan dalam keadaan terendam es diteruskan selama 15 menit kemudian dilakukan sentrifugasi, residu dipisahkan dan disimpan dalam keadaan beku, sedang supernatan ditambah sejumlah amonium sulfat sampai mencapai 40% (121 g/l) jenuh dalam keadaan terendam es sambil diaduk, kemudian pengadukan diteruskan selama 15 menit dan disentrifugasi, diperoleh residu (disimpan beku) dan supernatan. Perlakuan tersebut diulang untuk kadar 60% (130 g/l) jenuh. Fraksi biosurfaktan yang diambil adalah fraksi 40 - 60 % jenuh karena mempunyai nilai penurunan tegangan permukaan dan stabilitas emulsi terbaik (Yuliani, 2004).

Selama ekstraksi didapatkan fase endapan dan filtrat. Fase endapan merupakan produk kasar biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP, kemudian dipisahkan dari senyawa-senyawa dengan berat molekul kecil seperti garam amonium maupun senyawa organik

lainnya dengan cara dialisis menggunakan buffer Tris - HCl. Dialisis dilakukan pada suhu 10°C selama 24 jam. Setiap 3 jam dilakukan penggantian buffer sampai dideteksi tidak ada kandungan amonium sulfat dengan cara mengujinya menggunakan BaNO₃, ditandai dengan tidak terbentuk endapan putih BaSO₄. Hasil dialisis kemudian disentrifugasi, hasil endapan diliofilisasi untuk mendapatkan serbuk kering produk kasar biosurfaktan. Produk tersebut ditimbang dengan neraca analitik Shimadzu AEL - 200.

Pemurnian produk biosurfaktan dilakukan dengan kromatografi kolom penukar ion dengan mengikatkan zat-zat yang diinginkan pada matriks penukar ion DEAE - selulosa (diethyl aminoetil selulosa). Kolom elusi dengan buffer TRIS - HCl sebagai eluen. Sebagian besar biosurfaktan tertahan dalam kolom, sedang pengotor-pengotor dibiarkan keluar dari kolom. Proses elusi selanjutnya dengan memberikan gradien konsentrasi NaCl 0-1 M untuk melepas biosurfaktan maupun protein lainnya dari matriks kolom secara selektif. Fraksi yang didapatkan kemudian diukur nilai tegangan permukaan dan nilai Optical Density (OD) pada $\lambda = 203 \text{ nm}$. Fraksi yang menunjukkan adanya kandungan senyawa aktif ditandai dengan nilai tegangan permukaan rendah dan nilai OD tinggi. Fraksi terpilih kemudian didialisis untuk menghilangkan garam NaCl dan garam anorganik lain yang memiliki berat molekul rendah (Yuliani, 2004). Fraksi yang mengandung biosurfaktan dimurnikan dari komponen zat warna yang berasal dari molase (bersifat polar) dengan menggunakan kromatografi kolom dengan silika gel sebagai fasa diam dan kloroform (CHCl₃) - metanol (CH₃OH) - asam asetat (CH₃COOH) dengan perbandingan volume 80 : 15 : 0,5 sebagai eluen (Jenny, 1991). Hasil pemurnian kemudian diliofilisasi untuk mendapatkan produk murni biosurfaktan.

4.4. Ekstraksi dan purifikasi produk biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA710

Supernatan kultur bakteri yang mengandung biosurfaktan dipisahkan dari sel bakteri dengan cara sentrifugasi pada 6000 rpm, 25 menit, 27°C. Supernatan diekstrak tiga kali dengan pelarut etil asetat (Van Dyke *et al.*, 1993). Setelah terpisah menjadi dua lapisan, fasa air ditampung dan diuji aktivitas tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasinya. Sedangkan fasa etil asetat diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Residu yang diperoleh kemudian diliofilisasi sehingga diperoleh serbuk kering yang merupakan ekstrak kasar produk biosurfaktan.

Pemurnian biosurfaktan dilakukan dengan kromatografi kolom. Ekstrak kasar biosurfaktan yang telah diliofilisasi dilarutkan ke dalam etil asetat, dipisahkan senyawa

utama dari pengutornya menggunakan kromatografi kolom dengan sistem eluen n-heksana : etil asetat (2 : 3). Fraksi – fraksi yang diperoleh kemudian diuji dengan KLT. Fraksi dengan R_F tunggal kemudian diuji aktivitas permukaannya untuk mengetahui keberadaan biosurfaktan potensial. Dalam penelitian terdahulu telah ditemukan fraksi dengan R_F 0,18 yang mempunyai penurunan tegangan permukaan sebesar 23 mN/m. Fraksi yang didapat kemudian diuji kemurnian lagi dengan menggunakan KLT dengan sistem eluen n-heksana . etil asetat (2:3 / 1:1 / 3:2 /). Hasil pemurnian biosurfaktan diiofilisasi untuk mendapatkan produk murni biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D (Kurniawan, 2004).

4.5. Pengukuran tegangan permukaan produk biosurfaktan

Larutan biosurfaktan diukur nilai tegangan permukaan dengan menggunakan tensiometer du-Nuoy. Sebanyak 10 ml larutan sampel dimasukkan dalam cawan petri untuk diukur tegangan permukaannya. Hasil pengukuran tegangan permukaan dilaporkan sebagai hasil rata-rata 3 replikasi dan dinyatakan dalam mN/m atau dyne/cm. Pengukuran tegangan permukaan sangat berperan dalam proses ekstraksi dan pemurnian biosurfaktan. Semakin besar penurunan tegangan permukaan larutan biosurfaktan terhadap air menunjukkan semakin potensial biosurfaktan yang didapatkan.

4.6. Persiapan peremajaan dan pertumbuhan mikroba uji (mikroba patogen dan fitopatogenik tanaman)

Mikroba patogen yang diujikan pada penelitian ini meliputi mikroba dari kelompok bakteri, yeast dan kapang patogen pada manusia dan tanaman, antara lain : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Xanthomonas campestris*, *Candida albicans*, *Fusarium solani*. Peremajaan biakan mikroba dilakukan dengan menumbuhkan biakan dengan metode gores pada media Nutrien Agar untuk bakteri, media Sabouroud Dextrose Agar untuk yeast dan kapang

4.7. Pembuatan larutan biosurfaktan

Konsentrasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100%, 75%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 0% dari total keseluruhan biosurfaktan yang diperoleh. Larutan ini dibuat dengan mencampurkan biosurfaktan dalam metanol dan dibuat seri pengenceran dari konsentrasi tertinggi ke konsentarsi rendah.

4.8. Uji penghambatan biosurfaktan terhadap pertumbuhan mikroba patogen

Uji kemampuan penghambatan biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3K1⁺ dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D terhadap mikroba patogen dilakukan dengan menggunakan metode cakram kertas dan metode pengenceran dalam tabung. Skema untuk menguji aktivitas antimikroba disajikan dalam gambar 3

a) Metode cakram kertas (*disk diffusion method*)

Metode cakram kertas dilakukan menumbuhkan 1 ml suspensi biakan uji yang mempunyai nilai kekeruhan (OD) 0,5 pada $\lambda = 600 \text{ nm}$ pada media *Mueller-Hinton* Agar di cawan petri menggunakan metode pour plate. Biakan dibiarkan dingin. Pada permukaan agar tersebut, 2 kertas cakram steril dengan diameter 6 mm dan tebal yang sama, diletakkan dengan jarak antar kertas bersesherangan atau berjauhan. Cakram kertas tersebut kemudian ditetesi 50 μl larutan biosurfaktan dalam bentuk produk kasar dan produk murni. Produk biosurfaktan dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi (b/v) 100 %, 75 %, 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,125 %, 0 %. Biakan diinkubasi selama 1 - 2 hari pada suhu 35-37 °C untuk bakteri, 3-5 hari pada suhu 23-27 °C untuk yeast untuk kapang. Adanya penghambatan pertumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya daerah penghambatan (*halo*) disekitar cakram kertas (Jenny *et al.*, 1993; Bailey and Scott, 1994). Jika terdapat penghambatan pertumbuhan, maka diameter daerah penghambatan tersebut diukur dengan menggunakan jangka sorong. Pada konsentrasi yang menunjukkan hasil positif, dilakukan uji dengan metode pengenceran untuk menentukan nilai MIC dan MBC/MFC.

b) Metode pengenceran dalam tabung (*tube dilution method*)

Metode pengenceran dilakukan dengan membuat suspensi mikroba uji pada media cair *Mueller-Hinton* sehingga diperoleh nilai kekeruhan 0,5 pada $\lambda = 600 \text{ nm}$. Untuk kapang suspensi spora diambil dengan cara menambahkan akuades steril kedalam biakan miring kemudian divortek pelan hingga suspensi terlihat keruh. Suspensi tersebut diukur untuk mengetahui jumlah spora per mililiter dengan haemositometer. Apabila jumlah spora mencapai 750.000 spora/ml maka suspensi spora tersebut siap diujikan Biosurfaktan dengan konsentrasi (+) pada uji sebelumnya di masukkan dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 1 ml suspensi mikroba uji ke dalamnya. Kultur tersebut dihomogenkan dan diinkubasi selama 24 jam, sebagai kontrol suspensi mikroba uji tanpa penambahan biosurfaktan. Apabila terdapat aktifitas antimikroba maka tidak ada

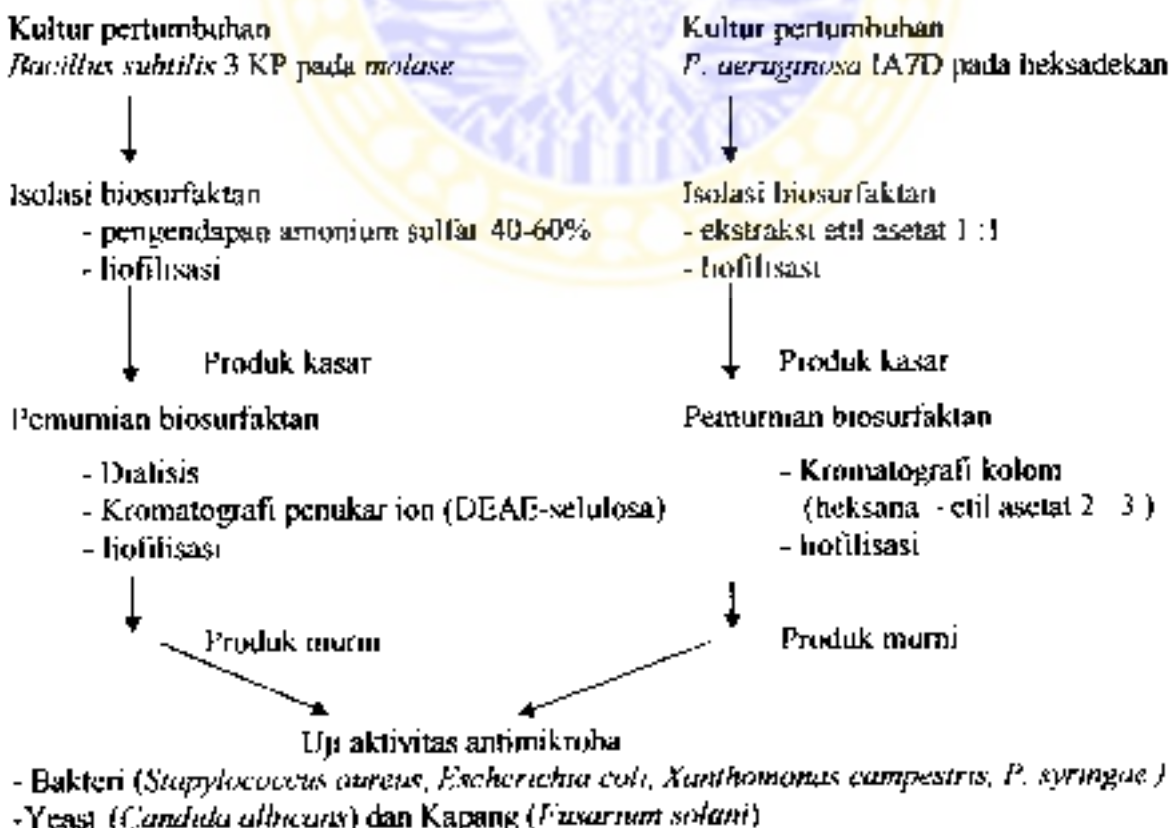
kekeraan dalam kultur tersebut (merupakan nilai MIC), kemudian 0,1 ml kultur yang positif ditumbuhkan pada media agar dan diinkubasi selama 1 hari. Apabila mikroba tidak tumbuh pada media agar tersebut, maka pada konsentrasi tersebut merupakan nilai MBC/MFC biosurfaktan tersebut (Barley and Scott, 1994).

4.9. Analisa Data

Data yang akan didapat berupa diameter daerah penghambatan pertumbuhan mikroba patogen yang diuji (kelompok bakteri, yeast, dan kapang) pada media pertumbuhan dengan keberadaan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* [ATD], nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*), nilai MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) dan MFC (*Minimal Fungicidal Concentration*) produk biosurfaktan pada masing-masing mikroba uji. Data yang didapat merupakan rata-rata dari 3 ulangan.

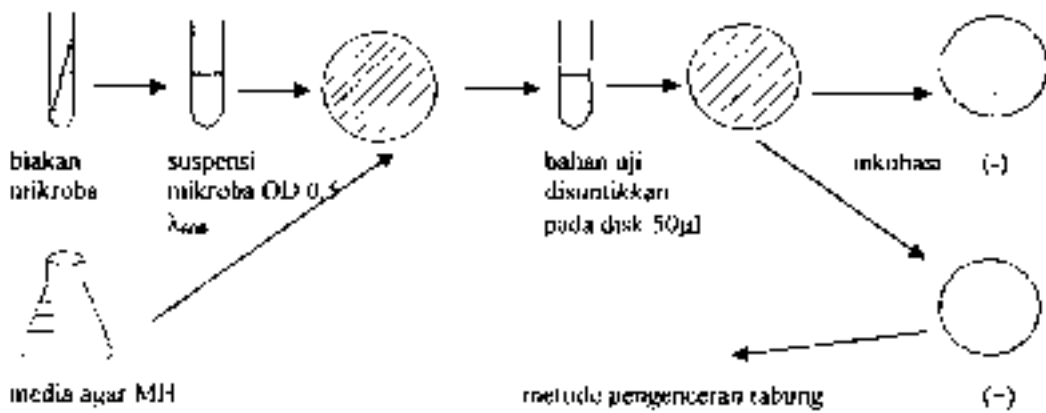
Data disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisis secara diskriptif dengan cara membandingkan dengan data daya hambat produk biosurfaktan komersial (surfaktan) dan data dari hasil penelitian biosurfaktan bakteri yang dipublikasikan di berbagai artikel ilmiah.

4.10. Tahapan penelitian

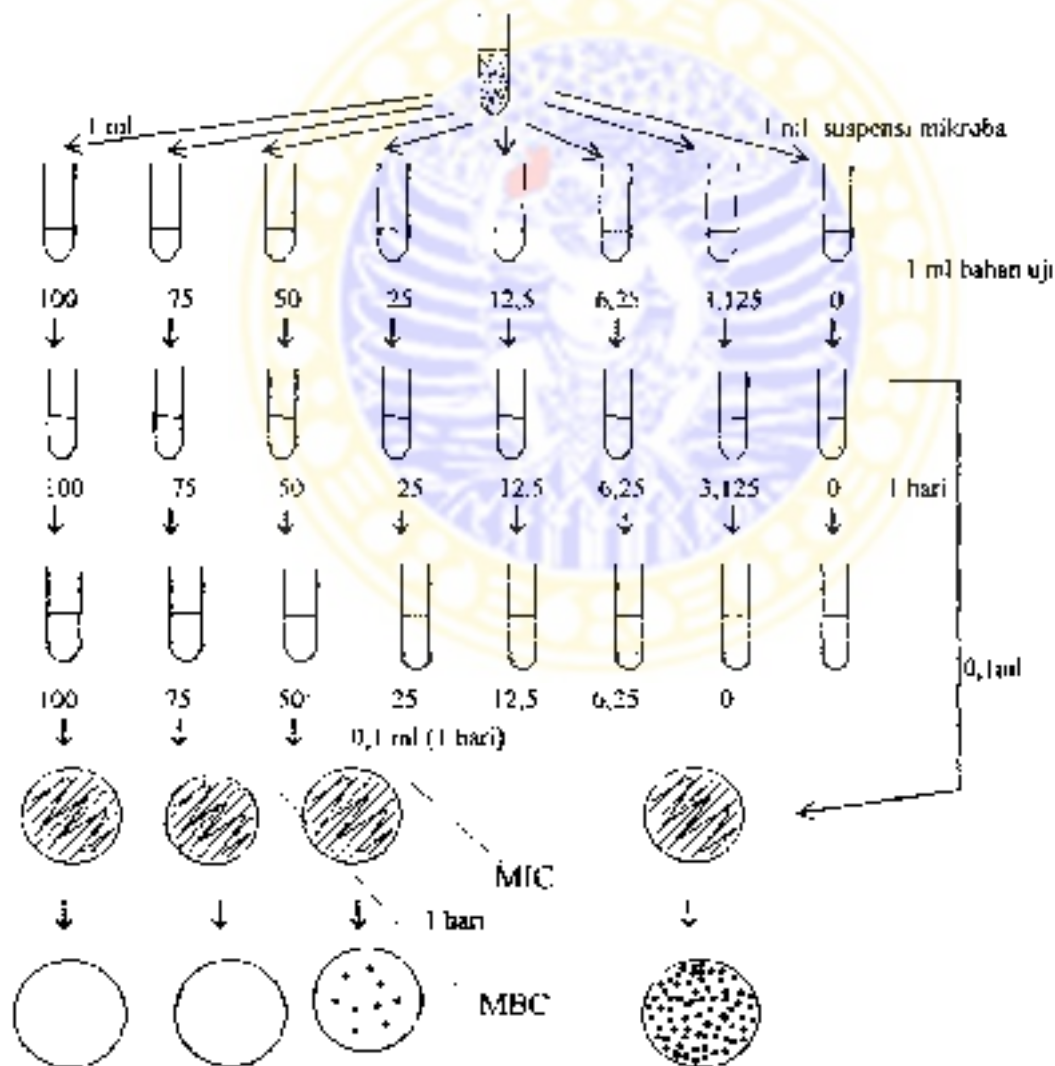


Gambar 4.1. Skema diagram alir penelitian

a. Metode Cakram Kertas :



b. Metode Pengenceran Tabung :



Gambar 4.2. Metode penentuan aktivitas antimikroba (a. b)

BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

5.1. BIOSURFAKTAN *Bacillus subtilis* 3KP

Produksi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dengan substrat molase (2%) selama waktu inkubasi 10 hari menghasilkan produk kasar biosurfaktan sebanyak 11.5629 gr/L. Dialisis biosurfaktan menggunakan garam amonium sulfat dan dilanjutkan dengan liofilisasi berhasil didapatkan 0,663 gr/l biosurfaktan. Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP memiliki aktivitas emulsifikasi terhadap hidrokarbon (solar) dengan kestabilan emulsi 14% selama 48 jam. Sedangkan larutan produk biosurfaktan dalam akuades dapat menurunkan nilai tegangan permukaan sebesar 36,96 mN/m dari nilai tegangan permukaan akuades 71,96 %. Penurunan tegangan permukaan supernatan kultur sebesar 10 mN/m menunjukkan bahwa biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP tergolong potensial.

Hasil uji penghambatan produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP pada mikroba patogen manusia dan fitopatogenik tanaman melalui metode cakram (*Diffusion methodes*) disajikan pada tabel 5.1. dan Gambar 5.1 dan Gambar 5.2. dibawah ini.

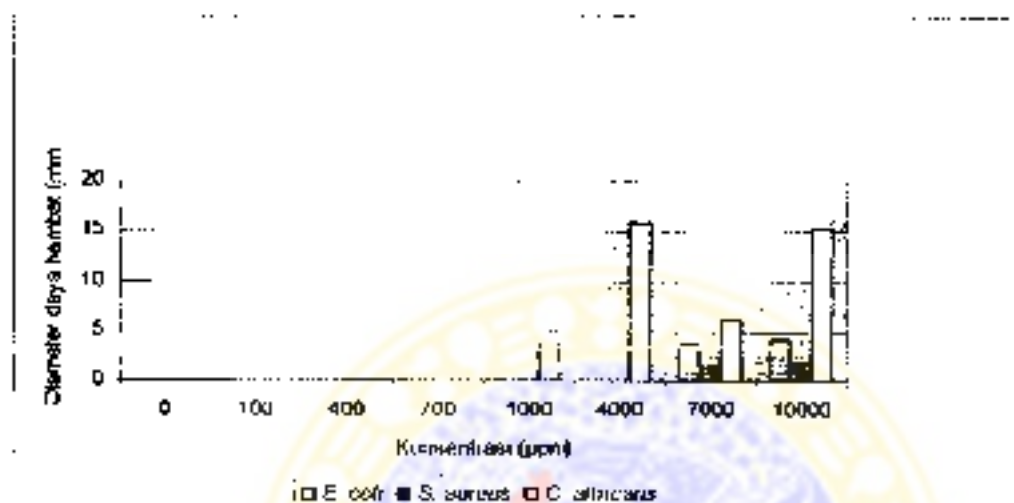
Tabel 5.1. Data rata-rata diameter dan simpangan baku daya hambat biosurfaktan *Bacillus* terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) dan mikroba fitopatogenik (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Fusarium solanii*).

Mikroba uji	Konsentrasi biosurfaktan <i>Bacillus subtilis</i> 3KP (ppm)							
	0	100	400	700	1.000	4.000	7.000	10.000
<i>Escherichia coli</i>	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	3,69 (±1,04)	4,27 (±1,03)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	1,59 (±0,80)	1,81 (±0,47)
<i>Candida albicans</i>	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	3,81 (±1,40)	15,73 (±2,14)	6,02 (±1,24)	15,16 (±4,13)
<i>Pseudomonas syringae</i>	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	0,00 (±0,00)	1,28 (±0,36)
<i>Xanthomonas campestris</i>	0,00 (±0,01)	0,095 (±0,01)	0,12 (±0,03)	0,31 (±0,13)	0,65 (±0,49)	0,85 (±0,47)	1,07 (±0,49)	1,45 (±0,49)

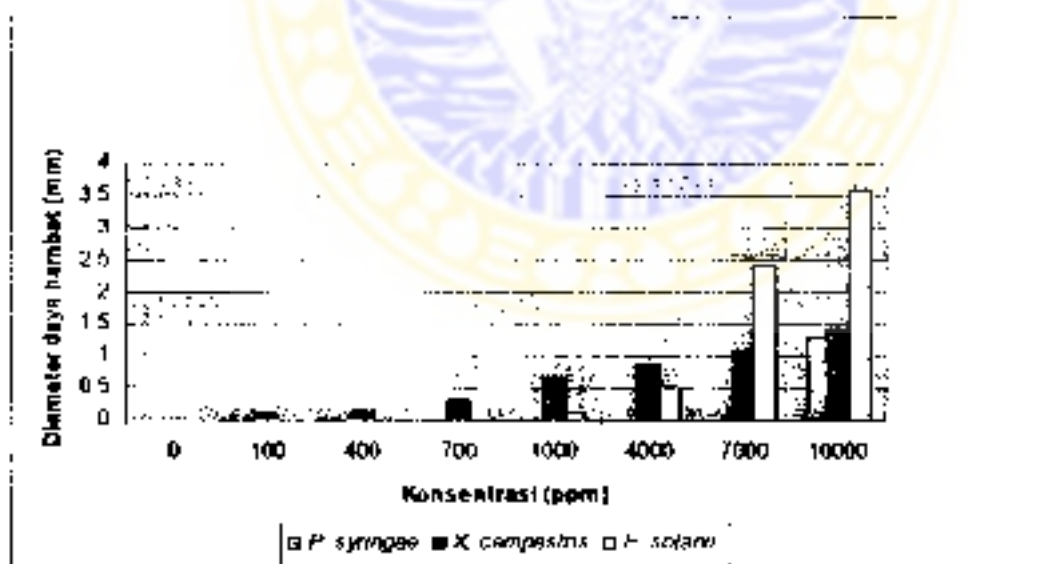
<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	0	0	0,09	0,50	2,40	3,59
	(±0,01)	(±0,01)	(±0,01)	(±0,01)	(±0,01)	(±0,01)	(±0,41)	(±0,07)

Keterangan : waktu inkubasi 24 jam

Hasil data didapatkan dari rata-rata 3 kali ulangan



Gambar 5.1. Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia



Gambar 5.2. Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap pertumbuhan mikroba patogen tanaman (litopatogen)

Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen uji, dengan kemampuan penghambatan yang berbeda bergantung jenis mikroba uji dan konsentrasi biosurfaktan. Dari besarnya diameter zona hambatan diketahui bahwa

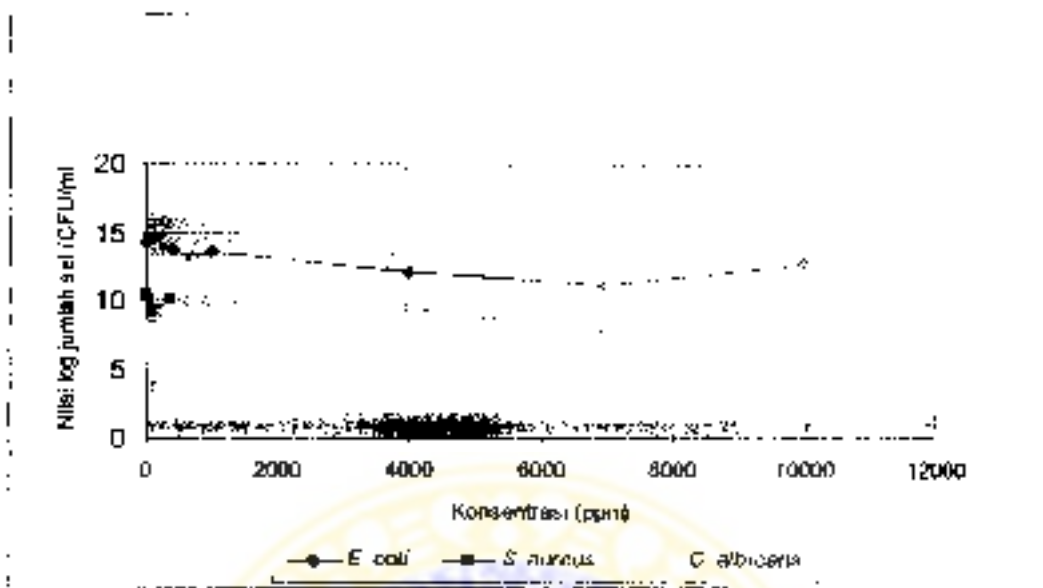
biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP paling baik dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Uji daya hambat dengan metode pengenceran dilakukan untuk lebih menguatkan penentuan nilai minimal penghambatan mikroba (MIC). Hasil evaluasi pertumbuhan mikroba uji setelah perlakuan dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP dengan metode pengenceran/dilusi (*Dilution method*) disajikan pada tabel 5.2. dan Gambar 5.3. dan 5.4.

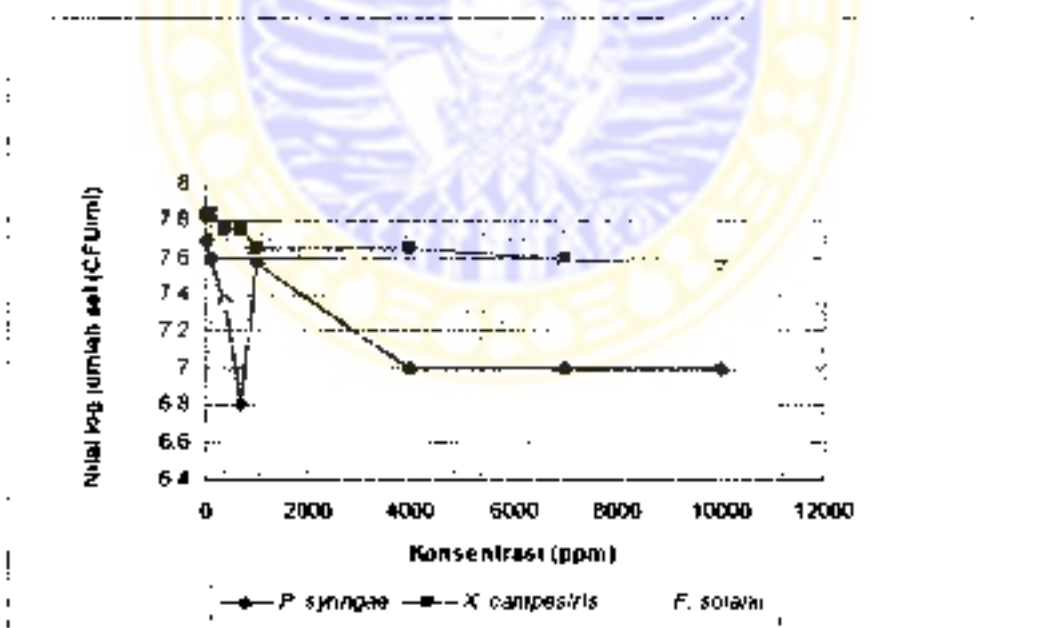
Tabel 5.2. Data nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP setelah inkubasi 24 jam.

Konsentrasi	Jenis mikroba uji					
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. campestris</i>	<i>F. solanum</i>
0	14,28	10,40	8,09	7,70	7,84	7,53
100	14,61	9,24	7,96	7,60	7,84	7,43
400	13,76	10,12	7,41	7,37	7,76	7,36
700	13,24	9,88	7,65	6,80	7,76	7,38
1.000	13,57	9,97	7,67	7,58	7,65	7,02
4.000	12,14	9,48	7,62	> 7	7,65	6,64
7.000	11,19	7,92	6,81	> 7	7,60	6,79
10.000	12,75	7,05	4,21	> 7	7,56	6,66

Dari analisis penurunan jumlah mikroba pada tabel 5.2 dan Gambar 5.3 dan 5.4. didapatkan nilai MIC biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP terhadap keenam mikroba uji dan disajikan pada tabel 5.3. Data lengkap uji daya hambat biosurfaktan terhadap mikroba patogen manusia dan mikroba fitopatogenik disertakan dalam lampiran pada laporan ini.



Gambar 5.3. Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba patogen manusia pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP setelah inkubasi 24 jam



Gambar 5.4. Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba tipopatogen pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP setelah inkubasi 24 jam

Tabel 5.3 Ringkasan respon pertumbuhan biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP terhadap pertumbuhan enam mikroba patogen

Jenis biosurfaktan	Mikroba Uji	Respon pertumbuhan dan diameter penghambatan dengan metode cakram		MIC (ppm)	MBC (ppm)	MFC (ppm)
		Konsentrasi (ppm)	Keterangan			
<i>Bacillus subtilis</i>	Patogen manusia					
	<i>S. aureus</i>	7.000	Mulai menghambat (1,59 mm ± 0,79)	7.000	-	-
		10.000	Hambatan terbesar (1,81 mm ± 1,07)			
	<i>E. coli</i>	7.000	Mulai menghambat (3,69 mm ± 1,03)	7.000	-	-
		10.000	Hambatan terbesar (1,81 mm ± 1,07)			
	<i>C. albicans</i>	1.000	Mulai menghambat (3,69 mm ± 1,03)	1.000	-	-
		10.000	Hambatan terbesar (1,81 mm ± 1,07)			
	Fitopatogen					
	<i>F. solanum</i>	1.000	Mulai menghambat (0,095 mm ± 0,01)	4.000	-	-
		10.000	Hambatan terbesar (3,86 mm ± 0,07)			
<i>X. campestris</i>	100	Mulai menghambat (0,095 mm ± 0,01)	1.000	-	-	
	10.000	Hambatan terbesar (1,45 mm ± 0,105)				
<i>P. syringae</i>	10.000	Mulai menghambat dan sebagai nilai hambatan terbesar (1,28 mm ± 0,36)	700	-	-	

5.2. BIOSURFAKTAN *Pseudomonas aeruginosa* IA7D

Produksi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D dengan substrat heksadekan (2%) selama waktu inkubasi 21 hari menghasilkan produk kasar biosurfaktan. Hasil ekstraksi supernatan kultur menggunakan pelarut etil asetat dan dilanjutkan dengan liofilisasi didapatkan produk kasar biosurfaktan berupa serbuk kering berwarna kuning kecoklatan dengan berat kering sebesar 2,3 gr/liter.

Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D memiliki aktivitas emulsifikasi terhadap hidrokarbon (kerosin dan solar), dengan kestabilan emulsi terhadap kerosin sebesar 40 % selama 24 jam. Sedangkan larutan produk biosurfaktan dalam akuades dapat menurunkan nilai tegangan permukaan sebesar 39 mN/m dari nilai tegangan permukaan akuades 71,96 %. Penurunan tegangan permukaan supernatan kultur sebesar 10 mN/m menunjukkan bahwa biosurfaktan tergolong potensial (Francy *et al.*, 1991)

Hasil uji penghambatan produk biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D pada mikroba patogen manusia dan fitopatogenik tanaman melalui metode cakram (*Diffusion methodes*) disajikan pada tabel 5.4 dan Gambar 5.5 dan Gambar 5.6. dibawah ini.

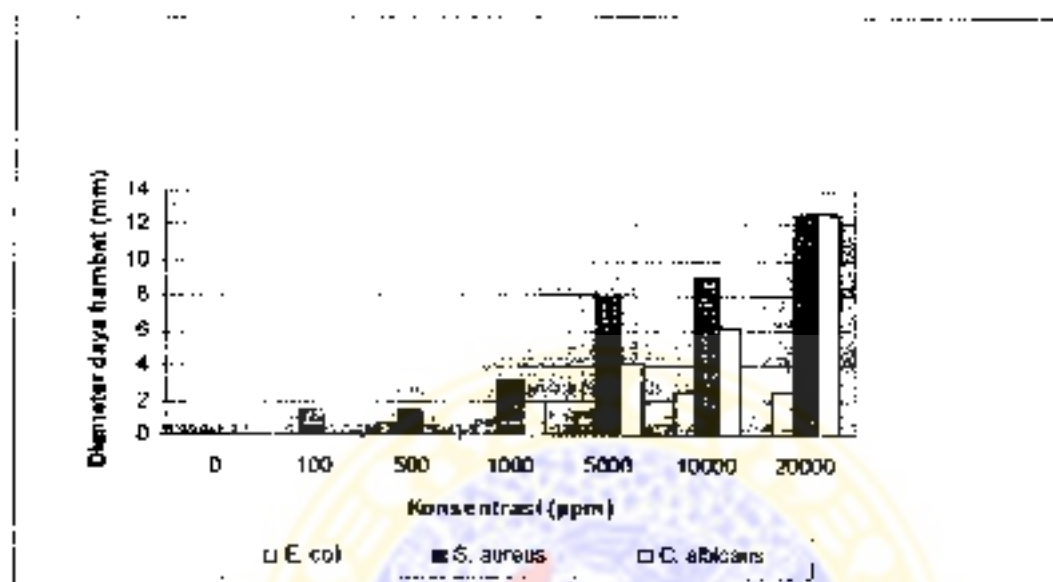
Tabel 5.4. Data rata-rata diameter dan simpangan baku daya hambat biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) dan mikroba fitopatogenik (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Fusarium solanii*).

Mikroba	Konsentrasi biosurfaktan (ppm)						
	0	100	500	1.000	5000	10.000	20.000
<i>Escherichia coli</i>	0,00 (± 0,00)	0,00 (± 0,00)	0,69 (± 0,27)	0,78 (± 0,20)	1,22 (± 0,30)	2,52 (± 1,47)	2,55 (± 0,00)
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,00 (± 0,00)	1,44 (± 0,04)	1,48 (± 0,28)	3,23 (± 0,24)	7,87 (± 0,56)	9,07 (± 0,58)	12,60 (± 0,00)
<i>Candida albicans</i>	0,00 (± 0,00)	0,00 (± 0,00)	0,00 (± 0,00)	1,96 (± 0,21)	4,11 (± 0,34)	6,16 (± 1,96)	12,65 (± 0,45)
<i>Pseudomonas syringae</i>	0,00 (± 0,00)	1,08 (± 0,03)	1,79 (± 0,35)	2,66 (± 0,14)	7,12 (± 0,63)	13,21 (± 0,72)	15,45 (± 0,34)
<i>Xanthomonas campestris</i>	0,00 (± 0,00)	0,00 (± 0,00)	0,93 (± 0,19)	1,13 (± 0,01)	2,11 (± 0,03)	2,11 (± 0,02)	2,19 (± 0,02)
<i>Fusarium solanii</i>	0 (± 0,00)	3,05 (± 0,34)	4,38 (± 0,57)	4,7 (± 0,33)	5,92 (± 0,51)	6,70 (± 0,34)	10,26 (± 1,07)

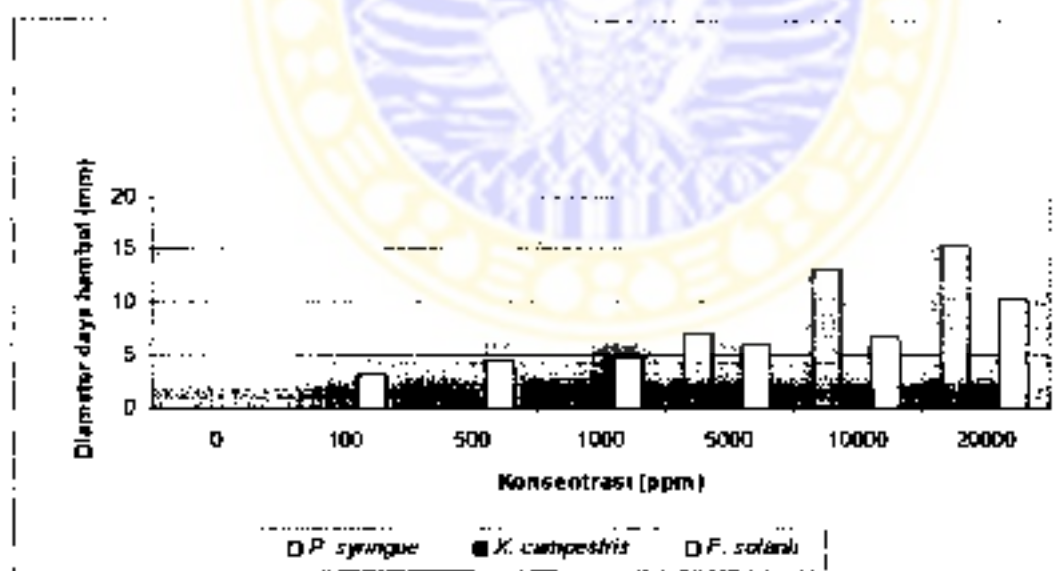
Keterangan :

Waktu inkubasi 24 jam

Hasil data didapatkan dari rata-rata 3 kali ulangan



Gambar 5.5. Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia.



Gambar 5.6. Diagram batang rata-rata diameter daya hambat biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D terhadap pertumbuhan fitopatogen.

Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen uji, dengan kemampuan penghambatan yang berbeda bergantung jenis mikroba uji dan konsentrasi biosurfaktan. Dari besarnya diameter zona hambatan diketahui

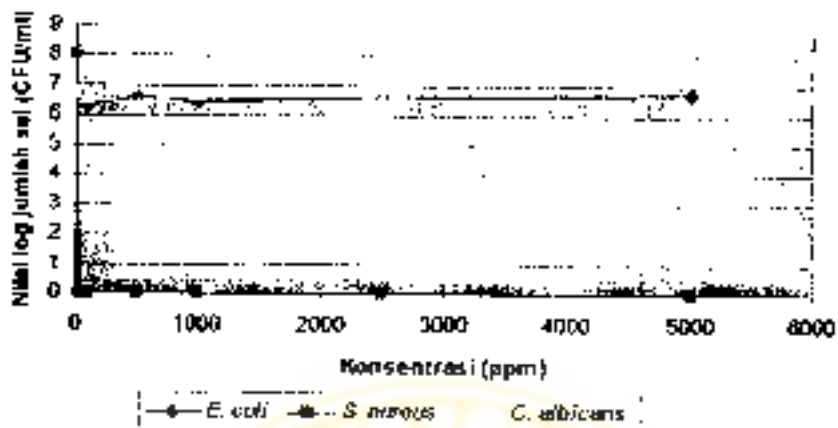
bahwa biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IATD paling baik dalam menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus*.

Uji daya hambat dengan metode pengenceran dilakukan untuk lebih menguatkan penentuan nilai minimal penghambatan mikroba (MIC). Hasil evaluasi pertumbuhan mikroba uji setelah perlakuan dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IATD dengan metode pengenceran/dilusi (*Dilution method*) disajikan pada tabel 5.5 dan Gambar 5.7 dan 5.8

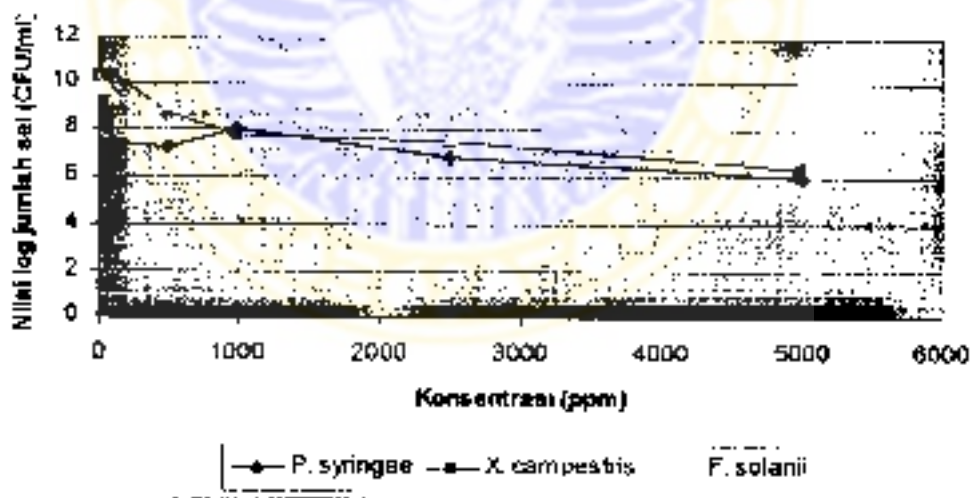
Tabel 5.5. Data rata-rata jumlah koloni mikroba (CFU) dari sampel uji *Pseudomonas aeruginosa* IATD terhadap pertumbuhan mikroba patogen manusia (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*) dan mikroba fitopatogenik (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Fusarium solani*) dengan penambahan berbagai jenis konsentrasi biosurfaktan setelah 74 jam inkubasi.

Konsentrasi Biosurfaktan	Jenis mikroba uji					
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. campestris</i>	<i>F. solani</i>
0	8,09	8,06	6,73	10,14	10,35	10,12
25	-	0	-	10,11	10,19	9,83
50	-	0	-	9,37	8,94	9,83
75	-	0	-	8,53	8,74	9,79
100	6,36	0	6,60	7,40	10,36	9,32
500	6,58	0	6,36	7,26	8,74	9,06
1.000	6,46	0	6,75	8,06	7,74	8,96
2.500	6,57	0	6,59	6,86	7,52	7,67
5.000	6,75	0	6,13	5,95	6,28	7,65

Dari analisis penurunan jumlah mikroba pada tabel 5.4. dan Gambar 5.6. dan 5.7. didapatkan nilai MIC biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3 KP terhadap keenam mikroba uji dan disajikan pada tabel 5.3. Data lengkap uji daya hambat biosurfaktan terhadap mikroba patogen manusia dan mikroba fitopatogenik disertakan dalam lampiran pada laporan ini.



Gambar 5.7. Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba patogen manusia pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D setelah inkubasi 24 jam.



Gambar 5.8. Grafik nilai log jumlah sel (CFU/ml) mikroba fitopatogen pada kultur uji dilusi dengan penambahan berbagai konsentrasi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D setelah inkubasi 24 jam.

Tabel 5.6. Ringkasan respon pertumbuhan biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D terhadap pertumbuhan enam mikroba patogen

Jenis biosurfaktan	Mikroba Uji	Respon pertumbuhan dan diameter penghambatan dengan metode cakram		MIC (ppm)	MBC (ppm)	MFC (ppm)
		Konsentrasi (ppm)	Keterangan			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IA7D	Patogen manusia					
	<i>S. aureus</i>	100	Mulai menghambat (1,44 mm ± 0,04)	75 < X > 100	100	-
		20.000	Hambatan terbesar (12,60 mm ± 0,42)			
	<i>E. coli</i>	500	Mulai menghambat (0,69 mm ± 0,27)	> 5.000	-	-
		20.000	Hambatan terbesar (2,55 mm ± 0,00)			
	<i>C. albicans</i>	1.000	Mulai menghambat (1,96 mm ± 0,21)	1.000	-	-
		20.000	Hambatan terbesar (12,65 mm ± 0,45)			
	Fitopatogen					
	<i>F. solani</i>	100	Mulai menghambat (3,05 mm ± 0,03)	100 < X > 1.000	-	-
		20.000	Hambatan terbesar (10,26 mm ± 1,06)			
	<i>X. campestris</i>	500	Mulai menghambat (1,10 mm ± 0,03)	5.000	-	-
		20.000	Hambatan terbesar (9,72 mm ± 0,90)			
	<i>P. syringae</i>	100	Mulai menghambat (1,08 mm ± 0,03)	100	-	-

Jika dibandingkan dengan hasil uji daya hambat mikroba dan produk biosurfaktan komersial seperti surfaktan (lipopeptida) dari *Bacillus subtilis*, Mulundocandin (lipopeptida) dari *Aspergillus sydowi*, glikolipid dari *Torulopsis apicola* IMET, lipopeptida dari *Bacillus licheniformis*, serta Rhamnolipid dari *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 (RI. 4112) diketahui bahwa biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3K dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D tergolong berpotensi sebagai agen anti mikroba patogen manusia dan mikroba patogen tanaman (fitopatogenik), sehingga bisa dikembangkan sebagai agen biokontrol hayati tanaman akibat serangan mikroba. Hal tersebut ditunjukkan dari kisaran nilai MIC dan atau respon hambatan beberapa mikroba uji dari biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D mempunyai nilai yang hampir sama dengan biosurfaktan komersial (Tabel 5.7). Hasil capaian MIC dari biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3K dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D dan biosurfaktan komersial terhadap enam mikroba uji disajikan pada tabel dibawah ini.

Tabel 5.7. Potensi penghambatan biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP (lipopeptida) dan *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D (glikolipid) terhadap mikroba patogen

Mikroorganisme	Nilai MIC (ppm)						
	Surfak tin	Mulun docandin	Rham nolipid	Bios BL	Liche rycin	Bio BS	Bio PA
Mikroba patogen manusia							
❖ <i>Staphylococcus aureus</i>	+++ (*)	ND	32	ND	ND (-)	7.000 (+)	75-X >100 (+++)
❖ <i>Escherichia coli</i>	+++	ND	64	1.000	ND ++	7.000 (+++)	> 5.000 (++)
❖ <i>Candida albicans</i>	ND	0,97	>256	1.000	ND	1.000 (+++)	1.000 (+++)
Mikroba patogen tanaman							
❖ <i>Pseudomonas syringae</i>	ND	ND	ND	ND	ND	700 (+)	100 (+++)
❖ <i>Xanthomonas campestris</i>	ND	ND	ND	ND	ND	1.000 (+)	5.000 (++)
❖ <i>Fusarium solani</i>	ND	>1.000	75	ND	ND (+++)	4.000 (+++)	100 < X (+++)

Keterangan :

Bio BL = Biosurfaktan(lipopeptida) dan *Bacillus licheniformis*

Bio BS = Biosurfaktan (lipopeptida) dari *Bacillus subtilis* 3KP

Bio PA = Biosurfaktan (glikolipid) dari *Pseudomonas aeruginosa* 1A7D

ND = tidak ada data

*) besar diameter hambatan pada metode difusi

+, < 5 mm; +, 6 - 7 mm; ++, 8 - 9 mm; +++, 10 - 11mm; +++, > 11mm.

(Yakimov et al., 1995)

Faktor yang menyebabkan masih tingginya nilai MIC dari biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D antara lain disebabkan oleh belum murninya produk biosurfaktan yang diujikan. Oleh sebab itu upaya pemurnian biosurfaktan sangat penting untuk dilakukan.

Selama ini diketahui bahwa biosurfaktan kelompok lipopeptida (surfactin) sangat prospektif sebagai antifungi. Akan tetapi dari penelitian ini diketahui bahwa kelompok glikolipid (biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D) mempunyai kemampuan penghambatan mikroba yang lebih baik melebihi kelompok lipopeptida (biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP). Oleh sebab itu kedua produk biosurfaktan tersebut berpeluang untuk diteliti lebih lanjut sampai dapat diaplikasikan baik untuk kepentingan industri farmasi maupun upaya biokontrol hayati fitopatogenik.



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat dirumuskan kesimpulan sebagai berikut

1. Biosurfaktan dari bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D dapat menghambat pertumbuhan mikroba patogen manusia dan fitopatogen. Kemampuan penghambatan kedua biosurfaktan tersebut berbeda bergantung jenis bakteri dan konsentrasi biosurfaktan uji.
2. Dari kisaran konsentrasi biosurfaktan yang diujikan (10.000 ppm untuk produk biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan 20.000 ppm untuk biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D) telah didapatkan nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) dengan nilai yang berbeda-beda bergantung jenis bakteri. Nilai MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) didapatkan pada biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D pada bakteri *Staphylococcus aureus*.
3. Perbandingan data hasil uji daya hambat biosurfaktan bakteri *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D dengan produk komersial telah menunjukkan bahwa biosurfaktan kedua bakteri tersebut berpeluang untuk dikembangkan dan tergolong prospektif untuk dikomersialkan dan diajukan paten.

6.2. Saran

- ❖ Perlu dilakukan peningkatan konsentrasi uji biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D untuk mendapatkan MBC (*Minimal Bactericidal Concentration*) dan MFC (*Minimal Fungicidal Concentration*).
- ❖ Perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut dari biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dan *Pseudomonas aeruginosa* IA7D

DAFTAR PUSTAKA

- Agnita, S. 2003 Pengaruh Inokulum dan Waktu Inkubasi Terhadap Produksi Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7D pada Substrat Solar. Skripsi. FMIPA Universitas Airlangga. Surabaya.
- Bailey, W. R. and Scott, E.G. 1994 **Diagnostic Microbiology, fourth edition.** The CV Mosby Company, Saint lous 168-187
- Bais, H.P., Fall, R., Vivanco, J.M. 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* Against Infection of Arabidopsis Roots by *Pseudomonas syringae* is Facilitated by Biofilm Formation and Surfactin Production. **Horticultur and Landscape Architecture, Colorado.** 134 : 307-319
- Bertrand, J. C., Bonin, P., Goutx, M., Gauthier, M., and Mille, G. 1994. The Potential Application of Biosurfactant in Combatting Hydrocarbon Pollution in Marine Environment. **Microbiology** 145: 53-56.
- Cooper, D.G., and Jazic, J.E. 1980. Surface Active Compounds from Microorganism **Applied Microbiology.** 26 : 229-253
- Desai, J. D. and Banat, I. M. 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. **Microbiology and Molecular Biology Reviews.** Vol 61, No. 1 : 47-64
- Guerra-Santos, L.H., Kapelli, O., Fiechter, M., 1984. *Pseudomonas aeruginosa* Biosurfactant Production in Continuous Culture with Glucose as Carbon Source, **Applied and Environmental Microbiology,** pp.301-305.
- Haba, E., Pinazo, A., Jauregui, O., Espuny, M. J. 2002. Physicochemical Characterization and Antimicrobial Properties of Rhamnolipids Produced by *Pseudomonas aeruginosa* 47T2 NCBIM 40044. Spain : **Wiley Periodicals, Inc** <http://www.google.com/> toxicity assay of Pseudomonas rhamnolipid.
- Jenny, K., Kappeli, O. and Fiechter, A. 1991. Biosurfactants from *Bacillus licheniformis* : Structural Analysis and Characterization. **Applied Microbiology Biotechnology.** 36 : 5-13
- Jenny, Katharina and V. Deltrieu. 1993. Lipopeptide Production by *Bacillus licheniformis* **Marcel Dekker Inc, New York.** 135-154
- Juwarkar, A., Despande, M., Habu, P., and Khana, P. 1994. Lipopeptide Biosurfactant from *Bacillus licheniformis* Strain BSI and Its Application. **International Symposium Bioproducts Processing, Kualalumpur.** 4-7
- Kludge, B., Vater, J Sainikow, J and Eckart, K. 1998. Studies on the Biosynthesis of Surfactin, A lipopeptide Antibiotic from *Bacillus subtilis* ATCC 21332. **FEBS Letters.** 231 : 107-110
- Koch, A K., Kappeli, O., Fiechter, A., And Reiser, J. 1991. Hydrocarbon Assimilation and Biosurfactant Production in *Pseudomonas aeruginosa* Mutans. **Applied Bacteriology.** 173 : 13-17
- Kosaric, Naim. 1993. **Biosurfactants ; production, properties, applications.** New York : Marcel Dekker, Inc.

- Kurniawan, D. I. 2004. Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* pada Heksadekana. Skripsi. Surabaya : Universitas Airlangga
- Lang and Wagner. 1996. Biological Activities of Biosurfactants. Technical University of Braunschweig, Germany
- Madigan, M., Matinko, J. M., and Parker, J. 2000. **Brock Biology of Microorganism**. Ninth edition. Southern Illinois University Carbondale by Prentice-Hall Inc Upper Saddle River, New Jersey.
- Makkar, R.S., and Cameotra, S.S. 1997. Biosurfactant Production by a Thermophilic *Bacillus subtilis* Strain. **Industry Microbiology and Biotechnology**. 37 - 39
- Manggarsari, N.M. 2003. Pengaruh Jenis dan Konsentrasi Substrat Karbohidrat terhadap Kemampuan Produksi Biosurfaktan Isolat Bakteri dan Kati Donan Cilacap, Skripsi. FMIPA Universitas Airlangga, Surabaya.
- Muslimin, L. W. 1995. **Mikrobiologi Lingkungan**. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Ni'matuzahroh, Surtiningsih, T., Isaeni. 2001. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dan Lingkungan Tercemar Minyak dalam Memproduksi Biosurfaktan Upaya Bioremediasi Lingkungan. Laporan Penelitian RUT VIII.1. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Ni'matuzahroh, Surtiningsih, T., Isaeni. 2002. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Lingkungan Tercemar Minyak dalam Memproduksi Biosurfaktan Upaya Bioremediasi Lingkungan. Laporan Penelitian RUT VIII.2. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Ni'matuzahroh, Surtiningsih, T., Isaeni. 2003. Kemampuan Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Lingkungan Tercemar Minyak dalam Memproduksi Biosurfaktan Upaya Bioremediasi Lingkungan. Laporan Penelitian RUT VIII.3. Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya.
- Nurhariyati, T. 2003. Biodegradasi Heksadekan oleh Yeast Hasil Isolasi Dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya. Tesis S2. Fakultas Pasca Sarjana Universitas Airlangga Surabaya
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. **Dasar – Dasar Mikrobiologi**. Universitas Indonesia Press, Jakarta. 447 - 508
- Ron, E.Z and Rosenberg, E. 2001. Natural Roles of Biosurfactants Israel : Blackwell Science Ltd. **Environmental Microbiology**. 229 - 236
- Salle, A. J. 1967. **Fundamental Principles of Bacteriology**, sixth editon. Mc Graw Hill Book Company Inc, London.
- Sasongko, A.P. 2003. Ekstraksi dan Karakterisasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* JKP pada Molase. Skripsi. FMIPA. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sulistiyani, F. 2003. Ekstraksi dan Karakterisasi Produk Endapan Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d Pada Heksadekana. Skripsi. Surabaya : Universitas Airlangga.
- Van Dyke, M. I., Couture, P., Bauer, M., Lee H. and Trevors, J. T. 1993. *Pseudomonas aeruginosa* UG2 Rhamnolipid Biosurfactant : Structural Characterization and Their

Use in Removing Hydrophobic Compounds from Soil. **Canadian Journal Microbiology**. 39 : 1071-1078

Yakunov, M M., Timmis, K N., Wray, V., and Fredrickson, H I., 1995. Characterization of a New Lipopeptide Surfactant Produced by Thermotolerant and Halotolerant Subsurface *Bacillus licheniformis* BAS 50. **Applied and Environmental Microbiology**. 1706 - 1713

Yuliani, H. 2004. Isolasi dan Karakterisasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP pada Substrat Molase Skripsi FMIPA. Universitas Airlangga, Surabaya.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Data diameter daerah penghambatan pertumbuhan mikroba patogen dan mikroba fitopatogen dengan beberapa konsentrasi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* LA7d

Mikroba	Ulangan	T	Diameter daerah penghambatan (mm)						
			20000 ppm	10000 ppm	5000 ppm	1000 ppm	500 ppm	100 ppm	0 ppm
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1	3,65	12,85	9,48	7,37	3,50	1,23	1,45	0
	2	2,98	12,83	9,32	8,48	3,05	1,78	1,40	0
	3	2,93	12,12	8,40	7,75	5,13	1,43	1,48	0
	Rerata	3,19	12,60	9,07	7,87	3,23	1,48	1,44	0
	Sd	0,40	0,42	0,58	0,56	0,24	0,28	0,04	0
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1	1,58	2,55	4,20	1,05	1,01	0,88	0	0
	2	1,53	2,55	1,48	1,05	0,60	0,80	0	0
	3	1,48	2,55	1,87	1,57	0,75	0,58	0	0
	Rerata	1,53	2,55	2,52	1,22	0,78	0,69	0	0
	Sd	0,05	0,00	1,47	0,30	0,20	0,27	0	0
<i>Candida albicans</i>	1	11,52	12,13	8,32	4,42	2,20	0	0	0
	2	11,50	12,87	5,65	4,15	1,83	0	0	0
	3	10,58	12,95	4,51	3,75	1,85	0	0	0
	Rerata	11,20	12,65	6,16	4,11	1,96	0	0	0
	Sd	0,54	0,45	1,96	0,34	0,21	0	0	0
<i>Fusarium solani</i>	1	7,05	10,69	6,69	5,37	5,02	4,06	2,71	0
	2	5,7	9,04	6,37	6,37	4,71	4,05	3,38	0
	3	0	11,04	7,05	6,03	4,37	5,04	3,06	0
	Rerata	4,25	10,26	6,70	5,92	4,7	4,38	3,05	0
	Sd	3,74	1,07	0,34	0,51	0,33	0,57	0,34	0
<i>Pseudomonas syringae</i>	1	0	15,80	13,42	7,72	2,73	1,43	1,08	0
	2	0	15,12	13,80	7,19	2,50	2,12	1,11	0
	3	0	15,43	12,40	6,46	2,75	1,83	1,06	0
	Rerata	0	15,45	13,21	7,12	2,66	1,79	1,08	0
	Sd	0	0,34	0,72	0,63	0,14	0,35	0,03	0
<i>Xanthomonas campestris</i>	1	0	2,20	2,13	2,07	1,12	1,15	0	0
	2	0	2,21	2,09	2,13	1,14	0,79	0	0
	3	0	2,17	2,10	2,12	1,13	0,85	0	0
	Rerata	0	2,19	2,11	2,11	1,13	0,93	0	0
	Sd	0	0,02	0,02	0,03	0,01	0,19	0	0

Keterangan:

T Tween-80 dengan konsentrasi 20000 ppm (kontrol positif)

0 ppm : tanpa penambahan biosurfaktan (kontrol negatif)

Sd standart deviasi

Lampiran 2 Diameter Daerah Penghambatan Pertumbuhan Mikroba Patogen dan Fitopatogen dengan Berbagai Konsentrasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP

Mikroba	Ulangan	Diameter daerah hambatan (mm)							
		10 000 ppm	7 000 ppm	4 000 ppm	1 000 ppm	700 ppm	400 ppm	100 ppm	0 ppm
<i>A. campestris</i>	1	1.5	1.29	1.72	0.29	0.27	0.12	0.08	0
	2	1.54	1.66	0.22	1	0.5	0.16	0.09	0
	3	1.16	0.66	1.19	1.13	0.25	0.1	0.1	0
	4	1.3	0.65	0.78	0.16	0.21	0.1	0.11	0
	Rerata	1.45	1.065	0.8525	0.645	0.3075	0.12	0.095	0
	SD	0.105	0.496	0.467	0.490	0.130	0.028	0.012	0
<i>P. syringae</i>	1	1.15	0	0	0	0	0	0	0
	2	1.02	0	0	0	0	0	0	0
	3	1.15	0	0	0	0	0	0	0
	4	1.81	0	0	0	0	0	0	0
	Rerata	1.28	0	0	0	0	0	0	0
	SD	0.36	0	0	0	0	0	0	0
<i>E. coli</i>	1	5.44	4.84	0	0	0	0	0	0
	2	4.72	4.14	0	0	0	0	0	0
	3	7.81	3.37	0	0	0	0	0	0
	4	3.09	2.43	0	0	0	0	0	0
	Rerata	4.27	3.69	0	0	0	0	0	0
	SD	1.0288	1.0352	0	0	0	0	0	0
<i>S. aureus</i>	1	2.14	1.08	0	0	0	0	0	0
	2	1.48	1.08	0	0	0	0	0	0
	3	0	2.76	0	0	0	0	0	0
	4	0	1.44	0	0	0	0	0	0
	Rerata	1.81	1.59	0	0	0	0	0	0
	SD	1.0792	0.7982	0	0	0	0	0	0
<i>E. solanum</i>	1	3.49	2.75	0.48	0.08	0	0	0	0
	2	3.59	2.66	0.54	0.1	0	0	0	0
	3	5.62	2.35	0.5	0.09	0	0	0	0
	4	3.65	1.85	0.48	0.11	0	0	0	0
	Rerata	3.5875	2.4025	0.5	0.095	0	0	0	0
	SD	0.0692	0.406	0.0280	0.0129	0	0	0	0
<i>C. albicans</i>	1	14.94	7.73	15.52	5.78	0	0	0	0
	2	18.52	5.09	18.41	2.81	0	0	0	0
	3	9.45	5.13	13.18	2.81	0	0	0	0
	4	17.83	6.11	15.82	3.81	0	0	0	0
	Rerata	15.16	6.02	15.73	3.81	0	0	0	0
	SD	4.1282	1.2360	2.1399	1.3954	0	0	0	0

Lampiran 3. Data Nilai Log TPC (*Total Plate Count*) dan Visualisasi Difusi dengan Berbagai Konsentrasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP Terhadap Mikroba Patogen dan Fitopatogen

Mikroba	Konsentrasi (ppm)	Visualisasi	Nilai Log TPC
<i>X. campestris</i>	0	Kuning keruh (-++)	7.845
	100	Kuning keruh (++)	7.840
	400	Kuning keruh (++)	7.767
	700	Kuning keruh (++)	7.762
	1.000	Kuning keruh (++)	7.654
	4.000	Coklat keruh (++)	7.654
	7.000	Coklat keruh (+++)	7.602
	10.000	Coklat keruh (++)	7.559
<i>P. syringae</i>	0	Putih keruh (+++)	7.70
	100	Putih kecoklatan agak jernih (++)	7.60
	400	Kecoklatan jernih (-)	7.37
	700	Kecoklatan lebih jernih (-)	6.80
	1.000	Coklat muda	7.58
	4.000	Coklat tua	> 7 (*)
	7.000	Coklat ketutaman	> 7 (*)
	10.000	Hitam	> 7 (*)
<i>E. coli</i>	0	Putih keruh (++)	14.28
	100	Putih kekuningan	14.61
	400	Kuning keruh (++)	13.76
	700	Kuning keruh (++)	13.24
	1.000	Kuning kecoklatan	13.57
	4.000	Coklat keruh (+++)	12.14
	7.000	Coklat kehitaman keruh (+++)	11.19
	10.000	Coklat kehitaman lebih keruh (++++)	12.75
<i>S. aureus</i>	0	Putih keruh (++)	10.40
	100	Putih lebih keruh (++)	9.24
	400	Kuning keruh (+++)	10.12
	700	Kuning kecoklatan keruh (+++)	9.88
	1.000	Kuning kecoklatan lebih keruh (++++)	9.97
	4.000	Coklat keruh (++)	9.48
	7.000	Coklat kehitaman keruh (+++)	9.92
	10.000	Coklat kehitaman lebih keruh (++)	9.05

Lanjutan lampiran 3 Data Nilai Log TPC (*Total Plate Count*) dan Visualisasi Dilusi dengan Berbagai Konsentrasi Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP Terhadap Mikroba Patogen dan Fitopatogen

<i>E. solanum</i>	0	Kuning keruh (+++)	7.53
	100	Kuning keruh (+++)	7.43
	400	Kuning keruh (+++)	7.36
	700	Kuning keruh (++)	7.38
	1.000	Kuning keruh (++)	7.02
	4.000	Coklat keruh (++)	6.64
	7.000	Coklat keruh (++)	6.79
	10.000	Coklat keruh (++)	6.66
<i>C. albicans</i>	0	Putih keruh (++)	8.09
	100	Putih kekuningan	7.96
	400	Kuning keruh (+++)	7.41
	700	Kuning kecoklatan keruh (+++)	7.65
	1.000	Kuning kecoklatan lebih keruh (++++)	7.67
	4.000	Coklat keruh (++)	7.62
	7.000	Coklat kehitaman keruh (+++)	6.81
	10.000	Coklat kehitaman lebih keruh (++++)	4.21

Keterangan :

- ++++ lebih keruh
- +++ keruh
- ++ agak jernih
- + jernih
- lebih jernih

Lampiran 4. Data kekeruhan kultur mikroba patogen dan mikroba fitopatogen setelah 24 jam penambahan produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* [A7d]

Konsentrasi (ppm)	Tingkat kekeruhan					
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Candida albicans</i>	<i>F. solanii</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. campestris</i>
0	+++	+++	+++	++	+++	+++
25	+++	++	++	++	++	+++
50	+++	++	++	++	++	+++
75	++	++	++	++	+	+++
100	-	+++	+++	++	-	++
500	-	+++	+++	++	-	-
1000	-	+++	-	+	-	-
2500	-	+++	-	-	-	-
5000	-	+++	-	-	-	-

Keterangan:

- +++ : sangat keruh
- ++ : keruh
- +
- : jernih
- : tidak dilakukan

Tabel data nilai TPC (*Total Plate Count*) mikroba patogen dan mikroba fitopatogen setelah 24 jam penambahan produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* [A7d]

Konsentrasi (ppm)	Nilai TPC (CFU/ml)					
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Candida albicans</i>	<i>F. solanii</i>	<i>P. syringae</i>	<i>X. campestris</i>
0	$11,90 \times 10^7$	$12,50 \times 10^1$	$53,60 \times 10^5$	$132,6 \times 10^2$	$139,00 \times 10^3$	$224,00 \times 10^9$
25	-	-	-	$67,55 \times 10^4$	$129,00 \times 10^6$	$153,67 \times 10^9$
50	-	-	-	$67,65 \times 10^4$	$234,00 \times 10^7$	$875,00 \times 10^6$
75	-	-	-	$63,05 \times 10^7$	$336,50 \times 10^8$	$615,00 \times 10^8$
100	0	$23,62 \times 10^5$	$39,46 \times 10^5$	$20,72 \times 10^3$	$249,00 \times 10^7$	$231,14 \times 10^9$
500	0	$38,41 \times 10^2$	$23,09 \times 10^5$	$11,55 \times 10^3$	$183,00 \times 10^5$	$554,00 \times 10^6$
1000	0	$28,99 \times 10^1$	$56,60 \times 10^4$	$9,09 \times 10^2$	$115,70 \times 10^6$	$469,50 \times 10^8$
2500	0	$37,01 \times 10^2$	$39,20 \times 10^4$	$4,68 \times 10^2$	$720,00 \times 10^4$	$328,00 \times 10^7$
5000	0	$56,21 \times 10^2$	$13,50 \times 10^4$	$4,44 \times 10^2$	$490,00 \times 10^3$	$150,00 \times 10^4$

(- : tidak dilakukan)

ABSTRAK PENELITIAN MAHASISWA

Nur Qomariyah, 2005, Uji Antimikroba Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Candida albicans*. SKRIPSI, di bawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh dan Tri Nurhariyati, S.Si, M.Kes, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Candida albicans*) dan mengetahui nilai MIC dan atau MBC/ MFC biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d pada ketiga mikroba uji. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 24 perlakuan dan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varians (ANOVA) satu arah dan uji LSD.

Biosurfaktan dihasilkan secara ekstraseluler oleh *Pseudomonas aeruginosa* IA7d ketika ditumbuhkan pada substrat heksadekana sebagai sumber karbon. Produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d yang didapatkan berupa serbuk berwarna kuning kecoklatan dengan berat kering 2,3 gr. Aktivitas antimikroba produk biosurfaktan diuji terhadap bakteri dan yeast dengan menggunakan konsentrasi yang berbeda-beda. Uji antimikroba biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d dilakukan dengan menggunakan metode cakram kertas dan metode pengenceran dalam tabung. Adanya zona penghambatan di sekitar cakram kertas menunjukkan bahwa produk biosurfaktan memiliki aktivitas antimikroba. Nilai aktivitas antimikroba ditentukan berdasarkan konsentrasi minimum penghambatan (MIC), konsentrasi terendah suatu agen antimikroba yang mampu menghambat perkembangan pertumbuhan mikroba secara nyata, dan atau berdasarkan konsentrasi minimum membunuh bakteri (MBC) / konsentrasi minimum membunuh fungi (MFC).

Hasil uji antimikroba menunjukkan bahwa produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d memiliki kemampuan antimikroba patogen terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Candida albicans*. Nilai-nilai MIC didapatkan pada konsentrasi (75 < x > 100) ppm, >5000 ppm, dan 1000 ppm pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *Candida albicans* berturut turut. Nilai MBC hanya didapatkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 100 ppm.

Kata kunci : biosurfaktan, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* IA7d, *Staphylococcus aureus*, uji antimikroba

Kurnia Fuji Astutik, 2005, Uji Potensial Penghambatan Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap *Xanthomonas campestris* dan *Fusarium solanii*, SKRIPSI, dibawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh dan Eri Nurhariyati, S.Si, M. Kes, jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Biosurfaktan *Bacillus subtilis* mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi penghambatan dan nilai MIC (*Minimal Inhibitor Concentration*) biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap mikroba fitopatogen (*Xanthomonas campestris* dan *Fusarium solanii*). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap dengan 16 perlakuan dan 4 kali pengulangan pada setiap perlakuan. Biosurfaktan diujikan pada berbagai konsentrasi (0, 100, 400, 700, 1000, 4000, 7000, dan 10000) ppm. Kemampuan penghambatan pertumbuhan dan nilai MIC (*Minimal Inhibitor Concentration*) biosurfaktan terhadap mikroba fitopatogen diukur menggunakan metode difusi dan dilusi. Data diameter daerah penghambatan dianalisis secara statistik dengan ANAVA satu arah dan uji LSD. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP menghambat pertumbuhan *Xanthomonas campestris* dan *Fusarium solanii*. Konsentrasi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP yang berbeda berpengaruh terhadap diameter daerah penghambatan pertumbuhan *Xanthomonas campestris* dan *Fusarium solanii*. Penghambatan terbesar dan biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terdapat pada *Fusarium solanii* dengan diameter daerah penghambatan sebesar (3.5875 ± 0.069) mm pada konsentrasi 10.000 ppm. Penghambatan terkecil dari biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terdapat pada *Fusarium solanii* dengan diameter daerah penghambatan sebesar (0.095 ± 0.012) mm pada konsentrasi 1000 ppm dan *Xanthomonas campestris* dengan diameter daerah penghambatan sebesar (0.095 ± 0.0129) mm pada konsentrasi 100 ppm. Nilai MIC biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap *Xanthomonas campestris* sebesar 1000 ppm dan terhadap *Fusarium solanii* sebesar 4000 ppm.

Kata kunci : biosurfaktan, *Bacillus subtilis* 3KP, *Fusarium solanii*, uji penghambatan, *Xanthomonas campestris*



Ratih Maria Basuki, 2005, Uji Potensial Penghambatan Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d Terhadap *Pseudomonas syringae* dan *Xanthomonas campestris*. Penelitian, di bawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh dan Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes., Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d dalam menghambat pertumbuhan bakteri fitopatogen (*Pseudomonas syringae* dan *Xanthomonas campestris*) dan mengetahui nilai MIC (*Minimal Inhibitory Concentration*) biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d pada kedua bakteri uji. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 16 perlakuan dan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) satu arah dan uji LSD (*Least significant Different*).

Biosurfaktan dihasilkan secara ekstraseluler oleh *Pseudomonas aeruginosa* IA7d saat ditumbuhkan pada substrat hekasadekana sebagai sumber karbon dan didapatkan produk kasar berupa serbuk berwarna kuning kecoklatan. Uji penghambatan produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d terhadap bakteri uji dilakukan dengan menggunakan metode cakram kertas (*disc diffusion method*) dengan konsentrasi 0 ppm, 100 ppm, 50 ppm, 1000 ppm, 5000 ppm, 10000 ppm, 20000 ppm dan Tween-80 20000 ppm sebagai kontrol positif serta metode pengenceran dalam tabung (*tube dilution method*) dengan konsentrasi 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2500 ppm dan 5000 ppm. Adanya zona penghambatan (halo) di sekitar cakram kertas dan kejernihan larutan dalam tabung pengenceran yang diperkuat dengan penurunan nilai TPC (*total Plate Count*) pada tiap konsentrasi menunjukkan bahwa produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d memiliki aktivitas penghambatan. Metode pengenceran dalam tabung dilakukan untuk menentukan nilai MIC.

Hasil metode cakram kertas menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d mengakibatkan semakin besar diameter penghambatan pertumbuhan bakteri uji. Diameter penghambatan mulai terbentuk pada konsentrasi 100 ppm ($1,08 \pm 0,03$ mm) dan 500 ppm ($0,93 \pm 0,19$ mm) pada *Pseudomonas syringae* dan *Xanthomonas campestris*. Sedangkan metode pengenceran dalam tabung menunjukkan bahwa kejernihan mulai nampak pada konsentrasi 100 ppm dan 500 ppm pada *Pseudomonas syringae* dan *Xanthomonas campestris*, sehingga pada konsentrasi tersebut nilai MIC didapatkan.

Kata kunci : Biosurfaktan, konsentrasi, *Pseudomonas aeruginosa* IA7d, *Pseudomonas syringae*, uji penghambatan, *Xanthomonas campestris*.

Shinta Agustina Larasati, 2005, Uji Daya Hambat Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Penelitian, di bawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh dan Tri Nurhariyati, S.Si., M.Kes., Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga, Surabaya

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dalam menghambat pertumbuhan mikroba patogen (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Candida albicans*) dan untuk mengetahui nilai MIC dan atau MBC/MFC biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP pada ketiga mikroba uji. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap dengan 24 perlakuan dan 4 kali ulangan. Data yang diperoleh dianalisis dengan analisis varian (ANOVA) satu arah dan uji LSD.

Biosurfaktan dihasilkan secara ekstraseluler dari kultur pertumbuhan *Bacillus subtilis* 3KP dengan menggunakan substrat molase sebagai sumber karbonnya. Produk kasar biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP yang diperoleh berupa serbuk kering berwarna coklat kehitaman. Untuk mengetahui aktivitas daya hambat biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap mikroba uji digunakan metode cakram kertas dan metode pengenceran dalam tabung dengan konsentrasi 0 ppm, 100 ppm, 400 ppm, 700 ppm, 1.000 ppm, 4.000 ppm, 7.000 ppm dan 10.000 ppm. Penghambatan pertumbuhan ditunjukkan dengan terbentuknya daerah penghambatan (*halo*) di sekitar cakram kertas. Untuk menentukan nilai aktivitas daya hambat mikroba digunakan metode pengenceran dalam tabung sehingga dapat diketahui konsentrasi minimum penghambatan (MIC), yaitu konsentrasi terendah suatu agen antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba secara nyata, serta konsentrasi minimum membunuh bakteri (MBC)/konsentrasi minimum membunuh fungi (MFC).

Hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa produk kasar biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP mampu menghambat pertumbuhan mikroba patogen *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Candida albicans*. Diameter daerah penghambatan terbesar didapatkan pada *Candida albicans*. Nilai-nilai MIC didapatkan pada konsentrasi 7000 ppm, 7000 ppm dan 1000 ppm pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Candida albicans* berturut-turut, sedangkan nilai MBC belum didapatkan dari ketiga mikroba uji tersebut dan masih dalam penelitian.

Kata kunci : Biosurfaktan, *Bacillus subtilis* 3KP, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, uji daya hambat.

Lisa Agustina, 2015, Uji Potensial Penghambatan Biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d terhadap Kapang Fitopatogenik *Fusarium solanii*, *Phytium sp*, dan *Phytophthora sp*, Penelitian, di bawah Bimbingan Dr. Ni'matazahroh dan Tri Nurhariyati, Ssi, M.kes, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi daya hambat biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d terhadap kapang fitopatogen (*Fusarium solanii*, *Phytium sp*, *Phytophthora sp*), serta mengetahui nilai MIC biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap ketiga kapang fitopatogen tersebut. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 24 perlakuan dan 3 kali ulangan. Data yang diperoleh akan dianalisis dengan analisis varian (ANAVA) satu arah dan uji (SD).

Biosurfaktan dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* IA7d secara ekstraseluler pada substrat tumbuh heksadekan sebagai sumber karbon. Produk kasar yang diperoleh berwarna kuning kecoklatan. Aktivitas biosurfaktan ini diujikan terhadap kapang fitopatogen (*Fusarium solanii*, *Phytium sp*, dan *Phytophthora sp*) melalui uji cakram kertas (Difusi) dan metode pengenceran dalam tabung (Dilusi) dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Konsentrasi untuk difusi : 0 ppm, 1.00 ppm, 5.00 ppm, 1.000 ppm, 5.000 ppm, 10.000 ppm, dan 20.000 ppm; sedangkan konsentrasi yang digunakan dalam difusi : 0 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 75 ppm, 1.00 ppm, 5.00 ppm, 1.000 ppm 2.500 ppm, dan 5.000 ppm. Uji cakram kertas digunakan untuk melihat aktivitas biosurfaktan sebagai agen anti kapang fitopatogenik yang ditunjukkan dengan adanya zona penghambatan di sekitar cakram kertas. Metode pengenceran dalam tabung digunakan untuk menguatkan nilai MIC melalui pengamatan kejernihan larutan dan perhitungan penurunan jumlah koloni kapang uji hasil TPC.

Uji anti kapang fitopatogenik sementara ini baru dilakukan pada *Fusarium solanii*. Data hasil difusi yang diperoleh menunjukkan bahwa produk kasar biosurfaktan *Pseudomonas aeruginosa* IA7d memiliki kemampuan daya hambat terhadap *Fusarium solanii* dengan zona hambatan yang berkorelasi positif terhadap kenaikan konsentrasi produk. Zona hambatan terbesar diperoleh pada konsentrasi 20.000 ppm (10,26 mm) dan zona ini telah memiliki nilai jauh di atas zona hambatan larutan Tween 80, 20.000 ppm (4,25 mm). Nilai MIC pada *Fusarium solanii* didapatkan berdasarkan adanya penurunan jumlah koloni hasil TPC pada konsentrasi (100 ppm).

Kata kunci : Biosurfaktan, produk kasar, *Pseudomonas aeruginosa*, *Fusarium solanii*, dilusi, difusi

Endah Suyekti, 2005, Uji Potensial Penghambatan Biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap Mikroba Fitopatogenik *Pseudomonas syringae*, *Phytophthora sp*, dan *Pythium sp*. Penelitian, di bawah bimbingan Dr. Ni'matuzahroh dan Tri Nurhariyati, S.Si., M. Kes., Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP dalam menghambat pertumbuhan mikroba fitopatogenik *Pseudomonas syringae*, *Phytophthora sp*, dan *Pythium sp*, serta untuk mengetahui nilai MIC dan MBC atau MFC biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap ketiga mikroba uji. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 24 perlakuan dan 4 ulangan. Data beda nyata terkecil dianalisis dengan Analisis Varian (ANOVA) satu arah dan dilanjutkan dengan uji LSD.

Bacillus subtilis 3KP mampu menghasilkan biosurfaktan jenis lipopeptida sebagai produk ekstraseluler dengan substrat pertumbuhan Molase 2 %. Aktivitas antimikroba biosurfaktan ini diujikan pada bakteri dan kapang patogen tanaman dengan konsentrasi biosurfaktan 0 ppm, 100 ppm, 400 ppm, 700 ppm, 1.000 ppm, 4.000 ppm, 7.000 ppm, dan 10.000 ppm. Metode yang digunakan ialah metode cakram kertas (*Diffusion Methode*) dan metode pengenceran dalam tabung (*Dilution Methode*), sehingga diperoleh nilai MIC dan MBC atau MFC untuk masing-masing mikroba uji.

Hasil sementara yang didapatkan dari uji cakram kertas, biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP mampu menghambat pertumbuhan *Pseudomonas syringae* pada konsentrasi 10.000 ppm dengan besar daerah penghambatan 1,28 mm dan diameter tersebut bertambah menjadi 2,34 mm pada inkubasi hari kedua. Penelitian tentang pengaruh biosurfaktan *Bacillus subtilis* 3KP terhadap pertumbuhan *Phytophthora sp* dan *Pythium sp* masih sedang dilakukan.

Kata kunci : *Bacillus subtilis* 3KP, biosurfaktan, *Phytophthora sp*, *Pseudomonas syringae*, *Pythium sp*, uji antimikroba.