

**ANALISIS KEMAMPUAN ISOLAT JAMUR *ASPERGILLUS NIGER* DENGAN PENAMBAHAN SUMBER KARBON PADA MEDIA TUMBUH DALAM MENGHASILKAN BIOSURFAKTAN UNTUK ALTERNATIF MEOR**

**SKRIPSI**

*Diajukan guna melengkapi syarat dalam mencapai gelar Sarjana Teknik*

Oleh

**ILMIATI**

**173210408**

**PROGRAM STUDI TEKNIK PERMINYAKAN**

**FAKULTAS TEKNIK**

**UNIVERSITAS ISLAM RIAU**

**PEKANBARU**

**2022**

**ANALISIS KEMAMPUAN ISOLAT JAMUR *ASPERGILLUS NIGER* DENGAN PENAMBAHAN SUMBER KARBON PADA MEDIA TUMBUH DALAM MENGHASILKAN BIOSURFAKTAN UNTUK ALTERNATIF MEOR**

**SKRIPSI**

*Diajukan guna melengkapi syarat dalam mencapai gelar Sarjana*

*Teknik*

Oleh

**ILMIATI**

**173210408**

**PROGRAM STUDI TEKNIK PERMINYAKAN**

**FAKULTAS TEKNIK**

**UNIVERSITAS ISLAM RIAU**

**PEKANBARU**

**2022**

## HALAMAN PENGESAHAN

Tugas akhir ini disusun oleh :

Nama : Ilmiati

NPM : 173210408

Program Studi : Teknik Perminyakan

Judul Proposal : Analisis Kemampuan Isolat Jamur *Aspergillus Niger* dengan Penambahan Sumber Karbon pada Media Tumbuh dalam Menghasilkan Biosurfaktan untuk Alternatif MEOR.

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Teknik pada Program Studi Teknik Perminyakan, Fakultas Teknik, Universitas Islam Riau

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Novia Rita, S. T., M. T. ( )

Penguji I : Richa Melysa, S. T., M. T. ( )

Penguji II : Neneng Purnamawati, S. T., M. Eng. ( )

Ditetapkan di : Pekanbaru

Tanggal : 21 Juni 2022

Disahkan oleh:

**KETUA PROGRAM STUDI  
TEKNIK PERMINYAKAN**

**NOVIA RITA, S.T., M.T.**

## PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir ini merupakan karya saya sendiri dan semua sumber yang tercantum didalamnya baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar sesuai ketentuan. Jika terdapat unsur penipuan atau pemalsuan data maka saya bersedia dicabut gelar yang telah saya peroleh.

Pekanbaru, 21 Juni 2022

Ilmiati

NPM 173210408



## KATA PENGANTAR

Rasa syukur disampaikan kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala karena atas Rahmat dan limpahan ilmu dari-Nya saya dapat menyelesaikan tugas akhir ini. Penulisan tugas akhir ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik Program Studi Teknik Perminyakan Universitas Islam Riau. Saya menyadari bahwa banyak pihak yang telah membantu dan mendorong saya untuk menyelesaikan tugas akhir ini serta memperoleh ilmu pengetahuan selama perkuliahan. Tanpa bantuan dari mereka tentu akan sulit rasanya untuk mendapatkan gelar Sarjana Teknik ini. Oleh karena itu saya ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ayahanda Sahyuti (Alm), Ibunda Dewi Martini, Abang Azanel Walad, Kakak Nurjannah dan Aisyah, serta Kakak ipar Loly Hari yang selalu memberikan dukungan moral maupun material serta doa yang senantiasa mengiringi saya hingga penyelesaian tugas akhir ini.
2. Ibu Novia Rita, S.T., M.T. selaku dosen pembimbing dan selaku ketua program studi Teknik Perminyakan Universitas Islam Riau yang telah meluangkan waktu dan tenaga dalam memberikan nasehat, masukan, dan motivasi selama menjalani proses pengerjaan tugas akhir ini.
3. Bapak Ali Musnal S.T., M.T. selaku dosen penasehat akademik serta Bapak/Ibu Dosen yang selama ini selalu membantu terkait perkuliahan, ilmu pengetahuan, serta dukungan selama di masa perkuliahan.
4. Pihak Laboratorium Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau dan Laboratorium Kimia-Fisika Universitas Riau yang telah memfasilitasi dan memberikan kemudahan pada penelitian tugas akhir ini.
5. Sahabat-sahabat terbaik saya Lisna Wardani, Fira Auliasari, Miftahul Jannah Khairifa, Selvi Isnani Putri, dan Sarah Tilanda Pane yang selalu menemani suka dan duka selama di masa perkuliahan.
6. Sahabat kecil saya Nadya Ulfa dan Dwi Laras Kurniaty yang selalu mendukung saya dari dulu hingga sekarang.
7. Seluruh teman-teman Teknik Perminyakan UIR angkatan 2017 khususnya kelas B. Teriring doa saya, semoga Allah memberikan balasan atas segala

kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga tugas akhir ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Pekanbaru, 21 Juni 2022

Penulis,

Ilmiati



Dokumen ini adalah Arsip Miik :  
**Perpustakaan Universitas Islam Riau**

## DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	i
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR .....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR TABEL .....	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
DAFTAR SINGKATAN.....	x
DAFTAR SIMBOL.....	xi
ABSTRAK .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	2
1.4 Batasan Masalah .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
2.1 <i>Microbial Enhanced Oil Recovery</i> (MEOR) .....	4
2.2 <i>Aspergillus Niger</i> .....	6
2.3 Biosurfaktan.....	8
2.4 Media Tumbuh Mikroorganisme .....	11
2.5 Sumber Karbon.....	13
2.5.1 Minyak Jelantah.....	14
2.5.2 Paraffin Cair .....	14
2.5.3 Tepung Tapioka.....	15
2.6 <i>Oil Displacement Test</i> .....	16
2.7 Uji Emulsifikasi .....	16
2.8 Uji Tegangan Permukaan .....	17
2.9 <i>Screening Criteria</i> MEOR.....	18
2.10 Jenis-jenis Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan.....	19

<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>21</b>
3.1 Metode Penelitian .....	21
3.2 Alat dan Bahan .....	21
3.2.1 Alat.....	21
3.2.2 Bahan .....	24
3.3 Diagram Alir Penelitian.....	27
3.4 Prosedur Penelitian .....	28
3.5 Lokasi Penelitian .....	30
3.5 Waktu Penelitian.....	31
<b>BAB IV PEMBAHASAN.....</b>	<b>32</b>
4.1 Media Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus Niger</i> .....	32
4.1.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Jamur.....	33
4.1.2 Media SMSS Padat .....	34
4.1.3 Media SMSS Cair .....	40
4.2 Struktur Mikroskopis Jamur <i>Aspergillus Niger</i> .....	45
4.3 Analisis Produksi Biosurfaktan .....	46
4.3.1 Uji Perpindahan Minyak ( <i>Oil Displacement Test</i> ).....	50
4.3.2 Uji Aktivitas Emulsifikasi.....	53
4.3.3 Uji Tegangan Permukaan.....	57
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>63</b>
5.1 Kesimpulan.....	63
5.2 Saran .....	64
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>65</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>73</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 3. 1</b> Alat Penelitian .....	24
<b>Gambar 3. 2</b> Bahan Penelitian .....	26
<b>Gambar 4. 1</b> Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i> pada Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah Selama 7 Hari.....	36
<b>Gambar 4. 2</b> Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i> pada Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Tepung Tapioka Selama 7 Hari .....	37
<b>Gambar 4. 3</b> Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i> pada Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Paraffin Cair Selama 7 Hari.....	39
<b>Gambar 4. 4</b> Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i> pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Paraffin Cair + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Paraffin Cair Selama 14 Hari.....	41
<b>Gambar 4. 5</b> Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i> pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Paraffin Cair + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Tepung Tapioka Selama 14 Hari .....	42
<b>Gambar 4. 6</b> Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i> pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Tepung Tapioka Selama 14 Hari.....	43
<b>Gambar 4. 7</b> Pertumbuhan Jamur <i>Aspergillus niger</i> pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah Selama 14 Hari.....	43
<b>Gambar 4. 8</b> Skema Hubungan Pemanfaatan Substrat, Pertumbuhan Sel, dan Pembentukan Biosurfaktan .....	44
<b>Gambar 4. 9</b> Struktur Mikroskopis Jamur <i>Aspergillus Niger</i> dengan Sumber Karbon Berbeda .....	45
<b>Gambar 4. 10</b> Produk Metabolit Sekunder dari Medium SMSS Cair Setelah Sentrifugasi .....	47
<b>Gambar 4. 11</b> Hasil Uji Perpindahan Minyak dengan Supernatan dari Media SMSS Cair yang Telah Disentrifugasi .....	52
<b>Gambar 4. 12</b> Hasil Uji Emulsifikasi dengan Supernatan dari Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Paraffin Cair dan Minyak Jelantah.....	56

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2. 1</b> Komposisi Kimia Tepung Tapioka .....	15
<b>Tabel 2. 2</b> <i>Screening Criteria MEOR</i> .....	19
<b>Tabel 2. 3</b> Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan .....	19
<b>Tabel 2. 4</b> Produk Hasil dari Mikroorganisme yang digunakan pada MEOR.....	20
<b>Tabel 3. 1</b> Waktu Penelitian.....	31
<b>Tabel 4. 1</b> Nilai <i>Oil Displacement Area</i> (ODA).....	51
<b>Tabel 4. 2</b> Nilai Indeks Emulsifikasi Biosurfaktan + Kerosin.....	54
<b>Tabel 4. 3</b> Hasil Uji Tegangan Permukaan Menggunakan Tensiometer <i>Du-Nouy</i> .....	58



## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1</b> Perhitungan Nilai Indeks Emulsifikasi Biosurfaktan + Kerosin.....	73
<b>Lampiran 2</b> Pengukuran Nilai <i>Oil Displacement Area</i> (ODA) .....	74



Dokumen ini adalah Arsip Miik :  
Perpustakaan Universitas Islam Riau

## DAFTAR SINGKATAN

$\text{CaCl}_2$	Kalsium Klorida
EOB	<i>Enhanced Oil Recovery</i>
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Kalium Dihidrogen Fosfat
MEOR	<i>Microbial Enhanced Oil Recovery</i>
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Magnesium Sulfat Heptahidrat
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Mangan Diklorida Tetrahidrat
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Sodium Fosfat <i>Dibasic</i> Heptahidrat
$\text{NH}_4\text{NO}_3$	Amonium Nitrat
ODA	<i>Oil Displacement Area</i>
SMSS	<i>Stone Mineral Salt Solution</i>



## DAFTAR SIMBOL

E24

Indeks Emulsifikasi Selama 24 Jam



Dokumen ini adalah Arsip Miik :  
**Perpustakaan Universitas Islam Riau**

**ANALISIS KEMAMPUAN ISOLAT JAMUR *ASPERGILLUS NIGER*  
DENGAN PENAMBAHAN SUMBER KARBON PADA MEDIA TUMBUH  
DALAM MENGHASILKAN BIOSURFAKTAN UNTUK ALTERNATIF  
MEOR**

**ILMIATI**

**173210408**

**ABSTRAK**

Biosurfaktan dapat diproduksi dari bakteri atau jamur yang ditumbuhkan pada berbagai substrat. Penelitian ini dilakukan untuk memproduksi Biosurfaktan dari jamur *Aspergillus niger* yang telah ditumbuhkan pada medium *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS) padat dengan penambahan minyak jelantah, paraffin cair, dan tepung tapioka sebagai sumber karbon serta  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  sebagai sumber nitrogennya. Sumber karbon terbaik untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* adalah tepung tapioka. Produksi Biosurfaktan oleh jamur *Aspergillus niger* dilakukan dalam media SMSS cair dengan penambahan sumber karbon minyak jelantah dan paraffin cair sebanyak 16 ml pada 4 *erlenmeyer*,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  sebagai sumber nitrogen, dilakukan pada pH 4, dan menggunakan jamur yang telah ditumbuhkan pada media SMSS padat. Biosurfaktan terbaik dihasilkan dari media cair + paraffin cair dengan jamur dari media padat + tepung tapioka (sampel 4), kemudian dari media cair + paraffin cair dengan jamur dari media padat + paraffin cair (sampel 3), lalu media cair + minyak jelantah dengan jamur dari media padat + tepung tapioka (sampel 2), dan yang terakhir media cair + minyak jelantah dengan jamur dari media padat + minyak jelantah (sampel 1). Nilai ODA paling tinggi diberikan oleh sampel 4 dengan nilai (6 cm), kemudian sampel 1 (4,1 cm), sampel 2 (3,6 cm), dan sampel 3 (2,4 cm). E24 paling besar diberikan oleh Biosurfaktan dari sampel 4 dengan nilai (51,3%), sampel 3 (28%), serta sampel 1 dan 2 (13%). Hasil pengujian penurunan tegangan permukaan paling tinggi diberikan oleh Biosurfaktan dari sampel 4 (20,5 dyne/cm), sampel 3 (10 dyne/cm), sampel 2 (8,3 dyne/cm), dan sampel 1 (8,2 dyne/cm).

Kata kunci: *Aspergillus niger*, Biosurfaktan, Paraffin cair, MEOR, SMSS, Sumber karbon

**ANALYSIS OF THE ABILITY OF ASPERGILLUS NIGER ISOLATES WITH  
THE ADDITION OF A CARBON SOURCE IN THE GROWING MEDIA TO  
PRODUCE BIOSURFACTANT FOR MEOR ALTERNATIVES**

**ILMIATI**

**173210408**

**ABSTRACT**

Biosurfactants can be produced from bacteria or fungi grown on various substrates. This research was conducted to produce Biosurfactants from *Aspergillus niger* fungus that had been grown on solid Stone Mineral Salt Solution (SMSS) medium with the addition of used cooking oil, liquid paraffin, and tapioca flour as carbon sources and  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  as nitrogen sources. The best carbon source for the growth of the fungus *Aspergillus niger* is tapioca flour. Biosurfactant production by *Aspergillus niger* was carried out in liquid SMSS media with the addition of 16 ml cooking oil and liquid paraffin as carbon source in 4 erlenmeyer,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  as a nitrogen source, carried out at pH 4, and using fungi that had been grown on solid SMSS media. The best Biosurfactants were produced from liquid media + liquid paraffin with fungi from solid media + tapioca flour (sample 4), then from liquid media + liquid paraffin with fungi from solid media + liquid paraffin (sample 3), then liquid media + cooking oil with fungi from solid media + tapioca flour (sample 2), and finally liquid media + cooking oil with fungi from solid media + cooking oil (sample 1). The highest ODA value was given by sample 4 with a value (6 cm), then sample 1 (4.1 cm), sample 2 (3.6 cm), and sample 3 (2.4 cm). The highest E24 was given by Biosurfactants from sample 4 with a value of (51.3%), sample 3 (28%), and samples 1 and 2 (13%). The results of the highest surface tension drop test were given by Biosurfactants from sample 4 (20.5 dyne/cm), sample 3 (10 dyne/cm), sample 2 (8.3 dyne/cm), and sample 1 (8.2 dyne/cm).

**Keywords:** *Aspergillus niger*, Biosurfactant, Liquid paraffin, MEOR, SMSS, Carbon source

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Salah satu teknik EOR yang banyak dikembangkan saat ini adalah *Microbial Enhanced Oil Recovery* (EOR). Teknik ini dapat dilakukan dengan cara menggunakan mikroorganisme untuk memproduksi biosurfaktan yang nantinya akan digunakan untuk injeksi MEOR. Mikroorganisme yang digunakan dalam MEOR merupakan mikroorganisme hidrokarbon-klastik atau pengguna hidrokarbon (Alpentri *et al.*, 2001) serta memiliki kemampuan untuk menghasilkan beberapa senyawa yang berpotensi dalam peningkatan perolehan minyak bumi seperti Gas, Asam, Polimer, dan Biosurfaktan (Laini *et al.*, 2014).

*Aspergillus niger* sebagai salah satu mikroorganisme hidrokarbon-klastik mampu tumbuh dengan cepat pada medium yang sesuai seperti tepung tapioka dan bahan lain yang mengandung pati sehingga bisa menghasilkan asam, enzim, serta zat-zat yang nantinya berperan dalam pembentukan Biosurfaktan. Salah satunya adalah tepung tapioka. Selain itu, *Aspergillus niger* juga mudah ditemukan di lingkungan dan penambahan sumber karbon pada media tumbuhnya akan meningkatkan potensi isolat jamur *Aspergillus niger* untuk menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang lebih baik. Penelitian selanjutnya dilakukan untuk memperoleh Biosurfaktan dari isolat jamur *Aspergillus niger* dengan melakukan inokulasi isolat *Aspergillus niger* dalam media SMSS padat ke media SMSS cair yang ditambahkan sumber karbon berupa minyak jelantah dan paraffin cair, setelahnya dilakukan pemisahan sel dan supernatan dengan alat sentrifugasi hingga diperoleh supernatan yang akan diukur nilai tegangan permukaan, indeks emulsifikasi, dan area perpindahan minyaknya. Penggunaan minyak jelantah sebagai sumber karbon dalam menghasilkan Biosurfaktan dan menurunkan tegangan permukaan telah terbukti pada penelitian yang dilakukan oleh Kartika *et al.* (2020). Selain minyak jelantah, paraffin cair juga digunakan sebagai sumber karbon pada penelitian yang dilakukan oleh Nugroho (2006) dengan hasil yang menunjukkan bahwa tegangan permukaan dari Biosurfaktan dengan sumber karbon paraffin cair mengalami penurunan.

Biosurfaktan memiliki beberapa kelebihan, yaitu tidak bersifat toksik, mudah didegradasi, dan dapat dihasilkan dari substrat atau limbah yang bernilai ekonomi rendah (Banat *et al.*, 2000). Penelitian ini nantinya juga diharapkan mampu memberikan manfaat, baik dalam segi kualitas Biosurfaktan yang dihasilkan serta dampaknya terhadap lingkungan karena dapat mengurangi limbah minyak jelantah yang umumnya sering ditemukan. Selain itu, sumber karbon seperti paraffin cair juga sangat bagus karena konsentrasi hidrokarbonnya yang besar membuat akumulasi lemak pada dinding sel jamur meningkat, sehingga produksi biosurfaktan juga meningkat, dan dalam segi ekonomi harga paraffin cair juga masih terjangkau, hal ini tentu saja akan menguntungkan (Nugroho, 2009).

### 1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian terhadap kemampuan isolat jamur *Aspergillus niger* dengan penambahan sumber karbon pada media tumbuhnya dalam menghasilkan Biosurfaktan untuk alternatif MEOR adalah sebagai berikut,

1. Menentukan pertumbuhan isolat jamur *Aspergillus niger* sebagai bahan alternatif MEOR dengan penambahan sumber karbon pada media tumbuhnya.
2. Mengetahui pengaruh biosurfaktan yang dihasilkan oleh isolat jamur *Aspergillus niger* terhadap zona perpindahan minyak dengan *oil displacement test*.
3. Mengetahui kemampuan emulsifikasi dari biosurfaktan yang dihasilkan oleh isolat jamur *Aspergillus niger*.
4. Mengetahui penurunan nilai tegangan permukaan dari biosurfaktan yang dihasilkan oleh isolat jamur *Aspergillus niger*.

### 1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat berguna bagi penerapan EOR ke depannya dan untuk membuktikan apakah mikroorganisme *Aspergillus niger* dapat menghasilkan produk yang bermanfaat untuk alternatif MEOR, mengingat bahwa *Aspergillus niger* merupakan salah satu mikroorganisme hidrokarbono-klastik, mudah ditemukan, non-toksik, dan ekonomis.

#### 1.4 Batasan Masalah

Penelitian ini fokus untuk mengetahui hasil produksi Biosurfaktan atau produk lain dari isolat jamur *Aspergillus niger* yang bermanfaat untuk alternatif MEOR dengan melakukan *oil displacement test*, uji emulsifikasi, dan pengukuran tegangan permukaan. Untuk menghindari sesuatu yang tidak diinginkan terjadi, maka hal-hal lain yang tidak berhubungan dengan penelitian yang akan dilakukan berada di luar jangkauan penelitian ini.



Dokumen ini adalah Arsip Miik :

Perpustakaan Universitas Islam Riau

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

Minyak bumi diperkirakan pertama kali ditemukan di Timur Tengah (Parsi/Iran) sebagai rembesan yang muncul ke permukaan. Pada zaman itu, Nabi Nuh *'alaihissalam* memanfaatkan minyak bumi yang merembes di permukaan untuk menambal perahunya agar air tidak masuk dan menenggelamkan perahu tersebut (Cut, 2018). Dari dulu hingga sekarang minyak bumi merupakan salah satu sumber daya alam yang sangat dibutuhkan oleh manusia. Minyak bumi memiliki banyak sekali manfaat untuk menunjang keberlangsungan hidup manusia di seluruh dunia. Minyak bumi sudah ada sejak dahulu kala, hal ini dibuktikan dari beberapa ayat dalam Al-Qur'an yang menyinggung tentang minyak bumi. Pada Al-Qur'an surat Al-'Ala (87: 4-5) yang berbunyi:

*"Dan yang menumbuhkan rerumputan (4) lalu dijadikan-Nya (rumput-rumput) itu kering kehitam-hitaman (5)".* (Q.S. Al-'Ala 87: 4-5).

Menurut penafsiran, ayat ke 4 dan 5 surat Al-'Ala menyatakan bahwa minyak bumi terbentuk dari bahan organik seperti rerumputan dan berwarna hitam. Selain itu, ayat 4 dan 5 surat Al-'Ala tersebut ditafsirkan menggambarkan bioma gurun. Karena pada lingkungan gurun, rerumputan seringkali terbakar hingga menjadi sekam karena panas yang tinggi. Oleh karena itu, minyak mudah ditemui di daerah tersebut (Arfiah Febriani & Yuniarni, 2019).

Minyak bumi diciptakan untuk memberikan manfaat kepada seluruh umat manusia. Oleh karena itu, dalam hal eksplorasi, eksploitasi, produksi, distribusi, dan konsumsi minyak bumi, hendaklah ditujukan untuk mencari Ridho Allah Subhanahu Wa Ta'ala dengan cara yang tidak bertentangan dengan norma-norma dan syariat-Nya.

#### 2.1 *Microbial Enhanced Oil Recovery* (MEOR)

Perolehan minyak dan gas bumi dengan metode konvensional pada masa sekarang ini terus mengalami penurunan dan akan semakin sulit jika dilakukan pada sumur yang sudah tua. Hal tersebut tentu saja menjadi suatu kekhawatiran tersendiri bagi industri minyak dan gas bumi karena akan menyebabkan kerugian yang besar. Oleh karena itu, *Enhanced Oil Recovery* (EOR) perlu dilakukan untuk

meningkatkan perolehan minyak dan gas bumi di reservoir. Ada banyak jenis EOR yang sudah dikembangkan di seluruh dunia, salah satunya adalah *Microbial Enhanced Oil Recovery* atau yang dikenal dengan MEOR yang dilakukan dengan cara memanfaatkan suatu mikroorganisme.

Metode MEOR ini pertama kali diperkenalkan ke publik pada tahun 1984 dan telah dipelajari secara intensif di berbagai negara termasuk Indonesia. Studi MEOR di Indonesia telah dilakukan sejak tahun 1999, studi pertama pada saat itu melibatkan sampel cairan seperti air formasi, minyak, dan tanah (*Abdurrahman et al.*, 2017). MEOR merupakan salah satu teknik EOR yang banyak dikembangkan pada saat ini. Prinsip dasar MEOR adalah memanfaatkan produk metabolit sekunder mikroorganisme untuk membantu meningkatkan perolehan minyak yang tersisa atau masih terperangkap di dalam reservoir (Nugroho, 2009).

Pada dasarnya pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme merupakan hasil dari proses metabolismenya, tetapi tidak semuanya habis terpakai untuk pertumbuhan dan perkembangan sel organisme. Sisanya adalah produk metabolit sekunder yang akan dikeluarkan dari dalam tubuh ke lingkungan sekitarnya. Menurut Nugroho (2009) produk metabolit sekunder yang diharapkan mampu meningkatkan perolehan minyak dan gas bumi adalah produksi Surfaktan, Gas, Asam, Pelarut, dan Polimer.

Minyak bumi terbentuk dari sebagian besar senyawa hidrokarbon dan sisanya adalah senyawa non-hidrokarbon. Kandungan senyawa hidrokarbon yang sebagian besarnya merupakan komponen pembangun minyak bumi, dapat digunakan sebagai sumber karbon oleh beberapa jenis mikroorganisme tertentu dan kandungan senyawa non-hidrokarbon yang ada akan berperan sebagai nutrisi pelengkap bagi pertumbuhan mikroorganisme sehingga mikroorganisme tersebut dapat melakukan metabolisme untuk keperluan hidupnya sendiri.

Mikroorganisme yang dapat digunakan untuk MEOR telah banyak diketahui dan diteliti oleh beberapa peneliti, setidaknya sudah ada lebih dari 100 spesies mikroba yang termasuk ke dalam 30 genera yang mampu menggunakan senyawa hidrokarbon. Mikroba seperti bakteri dan ragi biasanya ada di lingkungan minyak bumi. Berikut ini merupakan jenis bakteri yang dapat menggunakan hidrokarbon, yaitu *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, dan *Pseudomonas*

(Nugroho, 2009). Sedangkan ragi yang dapat menggunakan hidrokarbon diantaranya adalah *Candida*, *Debaromyces*, *Hansenula*, *Saccharomyces*, dan *Torulopsis*.

## 2.2 *Aspergillus Niger*

*Aspergillus niger* merupakan kelompok mikroorganisme aerobik yang beragam secara fisiologis. Pada lingkungan alaminya, *Aspergillus niger* sering ditemukan di permukaan cairan dan padatan. Jamur *Aspergillus niger* mempunyai kemampuan untuk menghasilkan beberapa zat bioaktif yang banyak digunakan untuk produksi enzim dan asam sitrat serta memiliki kapasitas untuk tumbuh pada substrat berbiaya rendah. *Aspergillus niger* juga mampu menghasilkan biosurfaktan golongan glikolipid, bila dibudidayakan pada pati (M. E. T. Silva *et al.*, 2019). Biosurfaktan glikolipid merupakan kombinasi karbohidrat dengan asam hidroksialifatik atau asam alifatik rantai panjang yang dihubungkan oleh gugus ester atau gugus eter (Sumiardi, 2021).

Menurut Alpentri *et al.* (2001) selain ragi dan bakteri, ada jamur yang diketahui mampu tumbuh dan berkembang pada minyak bumi. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Alpentri *et al.* (2001) dengan tujuan penelitian untuk mendapatkan isolat-isolat jamur serta menentukan kemampuan masing-masing isolat dan campurannya dalam mendegradasi minyak bumi dengan menggunakan medium yang berbeda. Hasil dari penelitian mengungkapkan bahwa isolat jamur *Aspergillus niger* memiliki kemampuan yang paling baik dalam mendegradasi minyak bumi. Hasil penelitian tersebut menjadi dasar untuk melakukan penelitian lebih lanjut terhadap isolat jamur *Aspergillus niger*.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Silva *et al.* (2019) jamur *Aspergillus niger* yang diisolasi dari tumbuhan *piper hispidum* mampu menghasilkan Biosurfaktan dengan penambahan *soy bean oil* pada media tumbuhnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat jamur *Aspergillus niger* tersebut dapat menghasilkan Biosurfaktan yang cukup signifikan dalam menurunkan tegangan permukaan. Tegangan permukaan awal adalah sebesar 68,4 N/m dan tegangan permukaan akhir sebesar 44 N/m.

Penelitian yang dilakukan oleh Asgher *et al.* (2020) menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* mampu menghasilkan Biosurfaktan dan untuk memperbanyak biosurfaktan yang dihasilkan mereka melakukan mutagenesis kimia. Penelitian tentang produksi biosurfaktan dari *Aspergillus niger* mungkin telah dilakukan sebelumnya, tetapi penelitian untuk mendapatkan Biosurfaktan dari isolat *Aspergillus niger* dengan kualitas yang lebih baik melalui penambahan sumber karbon seperti minyak jelantah, dan paraffin cair belum dilakukan.

Berdasarkan identifikasi, *Aspergillus niger* adalah salah satu spesies dari genus *Aspergillus*, famili *Moniliaceae*, ordo *Moniliales*, dan kelas *fungi imperfecti* yang paling umum serta sangat mudah ditemui. Pertumbuhan *Aspergillus niger* dapat terjadi dengan cepat. *Aspergillus niger* dapat digunakan secara komersial dalam produksi asam sitrat, asam glukonat, dan pembuatan beberapa enzim seperti *amilase*, *pektinase*, *amiloglukosidase*, dan *selulase*. *Aspergillus niger* memiliki syarat untuk dapat tumbuh dengan baik, yaitu pada suhu 35°C-37°C (optimum), 6°C-8°C (minimum), 45°C-47°C (maksimum), dan pada kondisi aerobik (Yunasfi *et al.*, 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Alpentri *et al.* (2001) *Aspergillus niger* dalam bentuk kultur tunggal menunjukkan kemampuan biodegradasi yang lebih baik dari isolat jamur lainnya. Hal ini ditandai dengan kemampuannya yang lebih besar dalam menurunkan nilai parameter fisika dan kimia minyak bumi dibandingkan isolat jamur lainnya. *Aspergillus niger* diduga mampu menggunakan beberapa senyawa hidrokarbon yang terdapat dalam minyak bumi. Hal ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Retno *et al.* (2013), pada penelitian tersebut dilakukan bioremediasi dengan menggunakan *Aspergillus niger* sebagai konsorsium *fungi* pendegradasi minyak bumi. Tetapi, tidak hanya *Aspergillus niger* yang digunakan, melainkan ada bahan-bahan lain yang dikombinasikan dengan konsorsium *fungi* tersebut. Hasil penelitian membuktikan bahwa campuran dari bahan-bahan yang digunakan mampu memberikan efisiensi degradasi Total Petroleum Hidrokarbon (TPH) optimal sebesar 81,32%.

*Aspergillus niger* merupakan salah satu mikroorganisme yang mampu menggunakan minyak bumi sebagai sumber karbonnya (hidrokarbon-klastik) dan bersifat mampu mengubah senyawa kimia menjadi lebih sederhana (*biodegradable*). Selain itu, menurut Irma (2015) *Aspergillus niger* juga mampu memproduksi asam sitrat dan menghasilkan enzim hidrolitik seperti *lipase*, *amilase*, *pektinase*, dan *protease* sehingga kapang *Aspergillus niger* bisa tumbuh pada makanan yang mengandung pektin, pati, lipid, dan protein (Ali *et al.*, 2002). Sifat dan kemampuan yang dimiliki oleh *Aspergillus niger* seperti yang telah disebutkan di atas memungkinkan isolat jamur tersebut untuk menghasilkan Biosurfaktan.

Penggunaan *Aspergillus niger* yang akan dilakukan pada penelitian ini bukan merupakan suatu hal yang tidak berdasar, didukung dengan banyaknya sumber dari penelitian sebelumnya yang mengungkapkan bahwa *Aspergillus niger* merupakan mikroorganisme yang memiliki sifat dan kemampuan untuk menghasilkan Biosurfaktan serta memiliki potensi untuk menghasilkan Biosurfaktan yang lebih baik dengan penambahan sumber karbon berupa minyak jelantah dan paraffin cair dalam media tumbuhnya (SMSS). Selain itu, *Aspergillus niger* merupakan salah satu jamur yang tidak membahayakan karena tidak menghasilkan mikotoksin sehingga mudah dan aman untuk digunakan dalam penelitian (Maryanty *et al.*, 2010).

### 2.3 Biosurfaktan

Biosurfaktan dihasilkan dari proses metabolisme mikroba (Nugroho, 2006). Biosurfaktan memiliki struktur yang terdiri dari gugus hidrofobik dan hidrofilik yang mampu menurunkan tegangan antarmuka/permukaan (Wibisana, 2018). Berdasarkan struktur kimianya biosurfaktan terdiri dari Biosurfaktan glikolipid, asam lemak, lemak netral, lipid, lipoprotein dan lipopeptida, fosfolipid, lipid partikulat, serta polimer. Biosurfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme memiliki sifat yang mampu mempercepat proses bioremediasi, melarutkan kontaminan hidrokarbon, dan meningkatkan indeks emulsifikasi hidrokarbon. Faktor yang mempengaruhi sintesis Biosurfaktan terdiri dari induksi, represi, dan penambahan nitrogen (Sumiardi, 2021).

Ada beberapa mikroorganisme yang mampu memanfaatkan hidrokarbon sebagai sumber karbonnya (hidrokarbon-klastik), salah satunya adalah *Aspergillus niger* yang akan digunakan pada penelitian ini. Tetapi mikroorganisme hidrokarbon-klastik juga memiliki masalah karena senyawa hidrokarbon merupakan senyawa atau substrat yang tidak larut dalam air. Oleh karena itu, mikroorganisme hidrokarbon-klastik menghasilkan Biosurfaktan untuk memanfaatkan hidrokarbon. Mikroorganisme hidrokarbon-klastik menggunakan media (substrat) hidrokarbon untuk metabolisme dan perkembangannya. Mikroorganisme hidrokarbon-klastik mempunyai kemampuan untuk menurunkan tekanan permukaan dan tegangan antarmuka dua fase cair dari senyawa permukaan-aktif yang dihasilkannya (Das & Mukherjee, 2008).

Produksi Biosurfaktan dapat dilakukan menggunakan berbagai macam bahan baku berbasis agro. Bahan-bahan berbasis agro sangat murah dan mudah didapatkan sehingga Biosurfaktan yang diperoleh akan unggul dalam sisi komersial dibandingkan dengan surfaktan sintetis (Yamin, 2012) Selain itu, menurut Neu (1996) biosurfaktan sangat ramah lingkungan karena tidak bersifat toksin (racun). Biosurfaktan juga lebih stabil pada temperatur, pH, dan salinitas yang tinggi.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Gaur *et al.*, (2019) dalam (Kartika & Moentamaria, 2020) produksi biosurfaktan dengan pH 4-10 menunjukkan indeks emulsifikasi yang cenderung stabil. Dalam produksi biosurfaktan, pH terbaiknya berada antara 7–12, Biosurfaktan yang baik juga memiliki indeks emulsifikasi sebesar 90%, pernyataan tersebut didukung dengan teori yang disampaikan oleh (Vigneshwaran *et al.*, 2018) yang menyatakan bahwa Biosurfaktan sangat stabil pada kondisi basa daripada kondisi asam. Biosurfaktan dengan sifat-sifat seperti yang telah disebutkan sebelumnya merupakan suatu alternatif yang mempunyai potensi untuk menggantikan surfaktan sintetis pengaktif permukaan yang kurang ramah lingkungan (Van Dyke *et al.*, 1991).

Biosurfaktan memiliki dua sisi, yaitu sisi hidrofobik dan sisi hidrofilik. Biosurfaktan bekerja dengan cara setiap sisi memasuki fasanya masing-masing. Bagian kepala Biosurfaktan yang bersifat hidrofilik masuk pada fase hidrofilik sedangkan bagian ekor yang bersifat hidrofobik masuk pada fase hidrofobik,

interaksi antara gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik pada kedua fasenya tersebut menyebabkan penurunan tegangan permukaan antarfase (Amelia & Titah, 2021).

Produksi Biosurfaktan dipengaruhi oleh beberapa faktor penting, yaitu sumber karbon (nutrisi), nitrogen, mineral, kondisi lingkungan termasuk pH dan suhu (Batubara, 2011). Berikut ini dijelaskan beberapa faktor penting yang mempengaruhi produksi Biosurfaktan.

- Sumber Karbon

Sumber karbon sangat penting untuk produksi Biosurfaktan. Sumber karbon yang biasa digunakan dalam produksi Biosurfaktan adalah karbohidrat, minyak sayuran, dan hidrokarbon. Ada beberapa mikroorganisme yang hanya menggunakan karbohidrat untuk memproduksi Biosurfaktan, ada pula yang hanya menggunakan hidrokarbon sebagai agen produksi Biosurfaktannya, dan mikroorganisme lainnya menggunakan substrat secara bercampur atau terpisah untuk memproduksi Biosurfaktan (Batubara, 2011).

Hasil optimal pada produksi Biosurfaktan diperoleh dengan hidrokarbon, karbohidrat, dan lipid. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan hidrokarbon (paraffin cair), sumber karbohidrat (tepung tapioka), dan minyak jelantah untuk membuktikan apakah sumber karbon tersebut dapat menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang baik. Menurut Suryatma *et al.*, (2004) dalam (Batubara, 2011) sumber karbon digunakan oleh mikroorganisme untuk empat proses metabolismenya, yaitu asimilasi sintesis produk ekstraseluler, energi untuk pertumbuhan, asimilasi sintesis biomassa, dan energi untuk pemeliharaan. Produksi Biosurfaktan termasuk ke dalam asimilasi sintesis produk ekstraseluler.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan membuktikan bahwa penggunaan sumber karbon yang berbeda dapat mempengaruhi jenis dan kualitas Biosurfaktan yang terbentuk. Bakteri *Arthrobacter* mampu menghasilkan Biosurfaktan sebanyak 75% jika ditumbuhkan pada asetat atau etanol tetapi akan menghasilkan Biosurfaktan yang lebih banyak jika ditumbuhkan pada hidrokarbon (Mulligan dan Gibs, 1993 dalam Batubara, 2011).

- Sumber Nitrogen

Nitrogen juga berperan penting dalam produksi Biosurfaktan. Keterbatasan jumlah nitrogen dalam proses produksi Biosurfaktan dapat menyebabkan perubahan komposisi Biosurfaktan. Nitrogen berfungsi untuk menjadi faktor pembatas karena diperlukan dalam jumlah yang besar (Hidayat *et al.*, 2006 dalam Batubara, 2011). Sumber nitrogen yang biasa digunakan untuk produksi Biosurfaktan adalah urea, amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ),  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , dan  $\text{KNO}_3$  (Yataghene *et al.*, 2008; Abouseoud *et al.*, 2007 dalam Batubara, 2011). Nitrogen, karbon, fosfor, dan besi perlu dioptimalkan dalam produksi Biosurfaktan karena akan menjadi parameter untuk melihat pertumbuhan mikroorganisme yang potensial dalam menghasilkan Biosurfaktan yang akan digunakan untuk kebutuhan komersial (Abouseoud *et al.*, 2007 dalam Batubara, 2011).

- Kondisi Lingkungan

Kesesuaian kondisi lingkungan pertumbuhan mikroorganisme juga sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangannya. Kemampuan mikroorganisme dalam memproduksi Biosurfaktan juga dipengaruhi oleh kondisi lingkungan pertumbuhan. Kondisi lingkungan yang perlu diperhatikan untuk proses produksi Biosurfaktan oleh mikroorganisme adalah suhu, keberadaan oksigen, dan pH. Selain itu, air, panas, dan cahaya juga dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994 dalam Batubara, 2011).

#### 2.4 Media Tumbuh Mikroorganisme

Mikroorganisme memerlukan media berupa nutrien untuk melakukan pertumbuhan secara *in vitro*. Media memiliki fungsi kualitatif dan fungsi kuantitatif. Secara kuantitatif media digunakan untuk perhitungan dan perbanyakan mikroorganisme. Sedangkan secara kualitatif, media digunakan untuk identifikasi dan isolasi mikroorganisme (Harti, 2014 dalam Purnama Sari, 2019).

Media pertumbuhan digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam skala laboratorium. Media ini merupakan media nutrisi yang berfungsi menyiapkan sumber energi yang diperlukan untuk pertumbuhan mikroorganisme. sumber energi yang biasanya terkandung dalam media tumbuh adalah nitrogen, sulfur, faktor pertumbuhan organik, sumber karbon, dan fosfor (Radji, 2010 dalam Purnama Sari, 2019).

Pada penelitian yang akan dilakukan selanjutnya, media tumbuh yang digunakan berupa media *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS) padat dan juga SMSS cair. Media SMSS cair dan padat memiliki komposisi yang sama, yaitu Amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), *Manganese dichloride tetrahydrate* ( $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ), Sodium fosfat *dibasic heptahydrate* ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), Magnesium sulfat *heptahydrate* ( $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), Kalium dihidrogen Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), dan *aquadest*. Pada media SMSS padat ditambah sedikit agar untuk proses pematatannya. Selain itu, penambahan minyak jelantah, paraffin cair, dan tepung tapioka sebagai sumber karbon juga dilakukan untuk membuktikan bahwa isolat jamur *Aspergillus niger* dapat tumbuh pada media tersebut. Setelah itu, isolat jamur yang tumbuh pada media SMSS padat dipindahkan ke dalam media SMSS cair yang telah dibuat dengan empat *erlenmeyer* berbeda yang masing-masingnya terdiri dari dua *erlenmeyer* larutan SMSS + minyak jelantah dan dua *erlenmeyer* larutan SMSS + paraffin cair sebagai sumber karbon.

Kandungan Amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), *Manganese dichloride tetrahydrate* ( $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ), Sodium fosfat *dibasic heptahydrate* ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), Magnesium sulfat *heptahydrate* ( $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), dan Kalium dihidrogen Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) yang terdapat dalam media SMSS padat dan cair memiliki berbagai fungsi yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme.

- Amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ): merupakan sumber nitrogen bagi pertumbuhan jamur. Nitrogen berfungsi untuk pembentukan protein untuk memperbanyak pertumbuhan jamur. Nitrogen memiliki daya besar dalam pertumbuhan mikroorganisme. Oleh karena itu, penggunaan nitrogen perlu diatur agar tidak terlalu sedikit dan tidak terlalu banyak (Wawan, 2017).

- Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ): Kalsium klorida berfungsi untuk membantu pemecahan sel, membantu aktivitas enzim, dan meningkatkan nilai pH pada kondisi asam (Wawan, 2017).
- Natrium fosfat *dibasic heptahydrate* ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ): Natrium fosfat *dibasic heptahydrate* berfungsi untuk mencegah hilangnya protein, mencegah oksidasi lemak, dan mencegah tumbuhnya bakteri (Yuanita *et al.*, 2009).
- *Manganese dichloride tetrahydrate* ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ): *Manganese dichloride tetrahydrate* berfungsi untuk pembentukan protein, aktivator enzim, dan membantu proses asimilasi (Dewantari *et al.*, 2016).
- Magnesium sulfat *heptahydrate* ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ): Magnesium sulfat *heptahydrate* berfungsi sebagai aktivator enzim, membantu translokasi pati, serta pembentukan senyawa lemak dan minyak (Primaryadi *et al.*, 2015).
- Kalium dihidrogen Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ): Kalium dihidrogen fosfat berfungsi untuk sintesis protein, metabolisme nitrogen dan karbohidrat, mengaktifkan berbagai enzim, serta memecahkan pati (Wawan, 2017).

Penelitian selanjutnya didasarkan pada penelitian yang telah dilakukan oleh Alpentri *et al.* (2001) dengan hasil yang membuktikan bahwa SMSS dengan kandungan Amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ), *Manganese dichloride tetrahydrate* ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ ), Natrium fosfat *dibasic heptahydrate* ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), Magnesium sulfat *heptahydrate* ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), Kalium dihidrogen Fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ), dan *aquadest* dengan penambahan sumber karbon mampu menumbuhkan isolat jamur *Aspergillus niger* dengan sangat baik.

## 2.5 Sumber Karbon

Salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan produk hasil mikroorganisme adalah sumber karbon (Sumantha *et al.*, 2006 dalam Zuhri *et al.*, 2013). Sumber karbon berguna untuk meningkatkan energi biosintesis (Aunstrup, 1979 dalam Naiola & Widhyastuti, 2002).

### 2.5.1 Minyak Jelantah

Minyak jelantah dalam pembuatan Biosurfaktan dapat dijadikan sebagai inducer lipase. Enzim lipase dapat larut dalam air dan dapat mengkatalis hidrolisis ikatan ester dalam substrat lipid yang tidak larut air secara alami (Adhari *et al.*, 2016). Lipase dapat dihasilkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, fungi, *actinomyces*, dan *yeast* (Riwayati & Kurniasari, 2011). Menurut penelitian yang dilakukan oleh Maryanty *et al.*, (2010) aktivitas enzim lipase dari jamur *Aspergillus niger* adalah sebesar 42,22 unit/ml dengan media substrat onggok dan waktu fermentasi selama 4 hari. Oleh karena itu, minyak jelantah dipilih untuk digunakan pada penelitian ini sebagai inducer lipase karena mengandung asam lemak berantai panjang ataupun asam lemak bebas.

Minyak jelantah selain sebagai inducer lipase juga memiliki kandungan asam lemak yang tinggi (Adhari *et al.*, 2016). Asam lemak berfungsi untuk biosintesis Biosurfaktan dalam struktur *amphilik* dan berperan sebagai sisi hidrofobik (Nanda & Kussuryani, 2013). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kartika *et al.* (2020) minyak jelantah yang ditambahkan pada media tumbuh dengan agen produksi berupa bakteri *Bacillus subtilis* mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 20 N/m dan indeks emulsifikasi sebesar 69%. Hal ini menunjukkan bahwa minyak jelantah mampu menghasilkan Biosurfaktan yang cukup efektif untuk menurunkan tegangan permukaan.

### 2.5.2 Paraffin Cair

Paraffin cair merupakan hidrokarbon yang bersifat cair, transparan, tidak berasa, kental, tidak berwarna, memiliki titik didih  $> 360^{\circ}$ , larut dalam benzena, kloroform, aseton, *petroleum* eter, karbon disulfida eter, dan tidak larut dalam air. Paraffin cair disebut juga mineral *oil* atau *white oil* (Yovita, 2016).

Terdapat senyawa paraffin dalam jumlah yang besar pada minyak bumi (Marquis, dikutip dalam Nugroho, 2006). Normal paraffin dan isoparaffin dengan cabang satu banyak terdapat dalam fraksi ringan dari minyak bumi. Paraffin atau alkana dengan 10 sampai 16 atom karbon

merupakan hidrokarbon yang lebih mudah didegradasi oleh mikroba. Jika paraffin cair dalam konsentrasi yang besar maka hidrokarbon juga ada dalam jumlah yang besar (Donaldson et al., 1989).

Penggunaan paraffin cair sebagai sumber karbon didasari oleh penelitian yang dilakukan oleh Nugroho (2006) dengan agen produksi beberapa bakteri hidrokarbon-klastik, seperti *Bacillus badius*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Pasteurella avium*, dan *Streptobacillus moniliformis* mampu menurunkan tegangan antarmuka dengan lebih baik dibanding glukosa dan heksadekana, yaitu 8,34 N/m. Menurut Sen & Swaminathan (2004) untuk mendapatkan produksi biosurfaktan yang optimal, maka mikroorganisme harus dibiakkan pada kondisi lingkungan dan medium pertumbuhan yang optimal.

### 2.5.3 Tepung Tapioka

Tepung Tapioka merupakan sumber pati yang baik untuk proses pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*, hal ini dibuktikan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Irma (2015). Hasil penelitian tersebut membuktikan bahwa penambahan 4 gr tepung tapioka ke dalam media padat untuk inokulasi jamur *Aspergillus niger* meningkatkan pertumbuhannya hingga 1,2 cm/hari. Penelitian dilakukan untuk membandingkan pertumbuhan *Aspergillus niger* pada tepung tapioka, tepung jagung, dan tepung beras. Hasilnya, tepung tapioka yang paling unggul dalam meningkatkan pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dibandingkan tepung lainnya. Menurut Zulkarnain (2013) tepung tapioka mengandung lebih banyak pati, yaitu sebesar (88,2 %) dibandingkan dengan tepung jagung (54,1%) dan tepung beras (-25%).

Pati merupakan karbohidrat (polimer glukosa) yang terdiri atas amilopektin dan amilosa. Pati berasal dari buah-buahan, sayuran, biji-bijian, dan umbi-umbian. Sumber alami pati, yaitu ubi kayu, ubi ganyong, ubi jalar, jagung, beras, kentang, labu, sagu, *amaranth*, gandum, dan sorgum (Herawati, 2010). Komposisi kimia dari tepung tapioka dapat dilihat pada **Tabel 2.1.**

**Tabel 2. 1** Komposisi Kimia Tepung Tapioka

Komposisi	Jumlah
Serat (%)	0,5
Air (%)	15
Karbohidrat (%)	85
Protein (%)	0,5-0,7
Lemak (%)	0,2
Energi (%)	307

Sumber : (Grace, dikutip dalam Irma, 2015).

### 2.6 Oil Displacement Test

*Oil displacement test* merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengevaluasi pengaruh Biosurfaktan pada zona perpindahan minyak (N. R. A. Silva *et al.*, 2014). Metode ini dilakukan dengan cara mengukur zona bening yang terbentuk setelah meneteskan larutan yang mengandung Surfaktan/Biosurfaktan pada permukaan *oil-water* (Sari *et al.*, 2014) . Diameter zona bening yang terbentuk dihitung sebagai *Oil Displacement Area* (ODA) dengan satuan *centi* meter (cm). Zona bening yang terbentuk terjadi akibat penyisihan lapisan minyak oleh biosurfaktan, pengukuran diameter zona bening yang terbentuk dapat dilakukan menggunakan jangka sorong (Wibisana, 2018).

### 2.7 Uji Emulsifikasi

Uji emulsifikasi merupakan salah satu kriteria dalam pengujian kemampuan biosurfaktan (Gozan *et al.*, 2014). Kegunaan uji emulsifikasi adalah untuk mengetahui apakah Biosurfaktan mampu mengemulsikan zat cair yang berbeda kepolarannya (Wibisana, 2018). Biosurfaktan yang paling baik didapatkan ketika harga indeks uji emulsifikasi menunjukkan angka emulsi paling besar yang memiliki arti bahwa Biosurfaktan mempunyai kestabilan emulsi yang besar.

Kemampuan emulsifikasi yang baik adalah ketika Biosurfaktan mampu mengemulsi berbagai hidrokarbon termasuk heksana, heptana, heksadekana, bensin, minyak tanah, dan minyak mentah dengan indeks emulsifikasi 60 – 78% bahkan hingga 90% (Kartika & Moentamaria, 2020). Hasil uji emulsifikasi

disebut dengan indeks emulsifikasi, dapat dihitung menggunakan persamaan berikut ini:

$$E_{24} = \frac{\text{Tinggi Emulsi}}{\text{Tinggi Total Larutan}} \times 100\%$$

Uji emulsifikasi yang didapatkan dari penelitian yang dilakukan oleh Kartika *et al.* (2020) dengan menggunakan bakteri *Bacillus subtilis* dan sumber karbon minyak jelantah untuk menghasilkan Biosurfaktan adalah sebesar 90%. Kemudian dari penelitian yang dilakukan oleh Wibisana (2018) untuk menghasilkan Biosurfaktan dengan menggunakan bakteri air laut yang tercemar minyak, indeks emulsifikasinya adalah sebesar 60%.

## 2.8 Uji Tegangan Permukaan

Secara umum tegangan permukaan merupakan gaya per satuan panjang yang harus diberikan sejajar pada permukaan untuk mengimbangi tarikan ke dalam (Juliyanto *et al.*, n.d.). Tegangan permukaan terjadi akibat gaya tarik-menarik antar molekul pada suatu permukaan zat cair. Terdapat 2 metode untuk penentuan tegangan permukaan yaitu metode pipa kapiler dan metode Tensiometer *Du-Nouy* (Wahyuni, 2013). Pada penelitian ini akan digunakan metode Tensiometer *Du-Nouy* untuk mengukur tegangan permukaan biosurfaktan yang dihasilkan.

Selain uji emulsifikasi, pengujian tegangan permukaan dan tegangan antarmuka juga menjadi salah satu kriteria untuk mengetahui keefektifan suatu biosurfaktan. Biosurfaktan yang mampu menurunkan tegangan permukaan di bawah 40 N/m adalah Biosurfaktan yang efisien, efektif, dan kompeten (Kartika & Moentamaria, 2020).

Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kartika *et al.* (2020) menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus subtilis* dengan sumber karbon minyak jelantah dapat menurunkan tegangan permukaan hingga 20 N/m. Sedangkan bakteri pengguna hidrokarbon lain dengan sumber karbon paraffin cair mampu menurunkan tegangan permukaan sebesar 8,34 N/m. (Nugroho, 2006).

Beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menyatakan bahwa mikroorganisme hidrokarbon-klastik yang mampu menghasilkan Biosurfaktan kebanyakan adalah bakteri dan agak sulit menemukan penggunaan fungi hidrokarbon-klastik untuk produksi biosurfaktan. Oleh karena itu, penelitian yang akan dilakukan selanjutnya akan membuktikan apakah jamur *Aspergillus niger* mampu menghasilkan Biosurfaktan atau produk lain yang bermanfaat dengan penambahan sumber karbon pada media tumbuhnya. Sumber karbon yang ditambahkan ke dalam media tumbuh dipilih berdasarkan kemampuannya sebagai sumber karbon, nitrogen, enzim, dan lain sebagainya.

## 2.9 *Screening Criteria* MEOR

Menurut Ridwan Ansyori (2018) pemilihan teknik *Microbial Enhanced Oil Recovery* (MEOR) untuk diaplikasikan pada reservoir memiliki beberapa faktor yang harus dipertimbangkan, yaitu:

- Temperatur reservoir optimum untuk pertumbuhan mikroba berkisar antara 86-104 °F. Ada juga beberapa mikroba yang dapat tumbuh dan berkembang sampai temperatur 176 °F.
- Tekanan reservoir tidak diberikan batas tertentu, namun pertumbuhan mikroba akan menunjukkan penurunan pada tekanan di atas 30.000 kPa.

Keefektifan metode MEOR dapat dilakukan dengan mengukur beberapa parameter, yaitu: formasi suhu, viskositas minyak, permeabilitas, salinitas air garam, *water cut*, *API crude oil*, pH, tekanan, saturasi *oil* residu, kedalaman porositas, dan kandungan mikroorganisme pada reservoir. Selain *screening criteria* MEOR yang dikemukakan oleh Ridwan Ansyori (2018), pada **Tabel 2.2** terdapat beberapa *screening criteria* untuk MEOR yang dikemukakan oleh Rebecca Smith Bryant:

**Tabel 2. 2 Screening Criteria MEOR**

Parameter	<i>Recommended Range</i>
Salinitas	<10% sodium klorida
Temperatur	<170°F
Kedalaman	<8000 ft
Mineral	<10-15 ppm arsenik, nikel, merkuri, selenium.
Permeabilitas Batuan Reservoir	>50 milidarcy
Mikroorganisme Indigen	Sesuai dengan mikroorganisme yang dipilih untuk injeksi MEOR
Mikroorganisme Indigen	Sesuai dengan mikroorganisme yang dipilih untuk injeksi MEOR
Tipe <i>Crude Oil</i>	>15°API
Saturasi Minyak Sisa	>25%
<i>Well Spacing</i>	<40 acres

Sumber : (Bryant, 1990).

### 2.10 Jenis-jenis Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan

Biosurfaktan dapat dihasilkan oleh mikroorganisme berupa bakteri ataupun jamur. Banyak penelitian yang telah membuktikan bahwa beberapa mikroorganisme mampu menghasilkan Biosurfaktan. Beberapa mikroorganisme yang mampu menghasilkan Biosurfaktan untuk alternatif *Microbial Enhanced Oil Recovery* (MEOR) dapat dilihat pada **Tabel 2.3** dan untuk jenis mikroorganisme beserta produk yang dihasilkan dapat dilihat pada **Tabel 2.4**.

**Tabel 2. 3 Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan**

Fungi	Bakteri
<i>Torulopsis bombicola</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Candida bombicola</i>	<i>Pseudomonas cepacia</i>
<i>Candida ingens</i>	<i>S. Marcescens</i>
<i>Candida lipolytica</i>	<i>Agrobacterium fabrum</i>
<i>Candida ishiwadae</i>	<i>Lysinibacillus sphaericus</i>
<i>Candida batistae</i>	<i>Brevibacillus sp</i>

<i>Aspergillus ustus</i>	<i>Streptomyces sp</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Ustilago maydis</i>	<i>Acinetobacter juni</i>
<i>Trichosporon ashii</i>	<i>Pseudomonas citronellolis</i>
<i>Glomerella cingulate</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Fusarium sp</i>	<i>Burkholderia glumae</i>
<i>Penicillium sp</i>	<i>Pasteurella avium</i>
<i>Trichoderma sp</i>	<i>Streptobacillus moniliformis</i>

Sumber : (Kartika & Moentamaria, 2020; Laini et al., 2014; Nugroho, 2006).

**Tabel 2. 4** Produk Hasil dari Mikroorganisme yang Digunakan pada MEOR

No	Produk Mikroba	Jenis Mikroorganisme
1	Biosurfaktan	<i>Bacillus sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Bombicola</i>
2	Biopolimer	<i>Xanthomonas sp.</i> , <i>Aureobasidium sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Alcaligenes sp.</i> , <i>Lactobacillus</i> <i>suebicus.</i> , <i>Pediococcus parvulus.</i> , <i>Halomonas sp.</i> ,
3	Biomassa	<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Xanthomonas sp</i>
4	Biogas	<i>Bacillus sp.</i> , <i>Brevibacterium sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Methanobacterium sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i>
5	Enzim	<i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Bacillus sp.</i> , <i>Dietzia sp.</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Rhodococcus</i> <i>sp.</i>
6	Asam dan pelarut	<i>Bacillus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> , <i>Enterobacter sp.</i> , <i>Zymomonas sp.</i> , <i>Klebsiella sp</i>

Sumber : (Siami & Yono, 2020).



Dokumen ini adalah Arsip Miik :

**Perpustakaan Universitas Islam Riau**

## BAB III

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 3.1 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam skala laboratorium. Tahapan dalam penelitian ini adalah menyiapkan alat dan bahan, *pretreatment* minyak jelantah sebagai sumber karbon, pembuatan media tumbuh *Stone Mineral Salt Solutions* (SMSS) padat dan cair, produksi biosurfaktan atau produk lain yang bermanfaat, analisis produksi biosurfaktan yang dilakukan dengan melakukan *oil spreading test*, uji emulsifikasi, dan uji tegangan antarmuka dengan *Tensiometer Du-nouy*. Data primer didapatkan dari hasil pengujian secara langsung, sedangkan data sekunder lainnya yang melengkapi penelitian bersumber dari jurnal, buku, *paper*, dan prosiding yang sesuai dengan topik penelitian. Berikut ini merupakan alat, bahan, dan alur dalam penelitian ini:

#### 3.2 Alat dan Bahan

##### 3.2.1 Alat

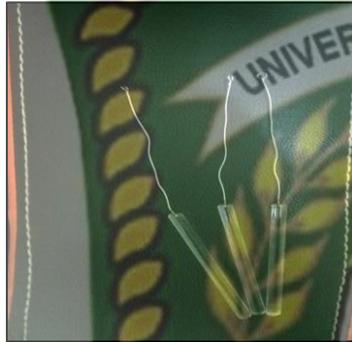
- |                            |                                  |
|----------------------------|----------------------------------|
| 1. <i>Erlenmeyer</i>       | 11. Alat sentrifugasi            |
| 2. Tabung reaksi           | 12. Pipet tetes                  |
| 3. Jarum ose               | 13. Inkubator                    |
| 4. Bunsen spiritus         | 14. <i>Shaker</i>                |
| 5. Cawan petri             | 15. <i>Autoclave</i>             |
| 6. Gelas ukur              | 16. Timbangan digital            |
| 7. <i>Magnetic stirrer</i> | 17. Alat sentrifugasi            |
| 8. <i>Mikroskop</i>        | 18. Pipet tetes                  |
| 9. Tabung sentrifugasi     | 19. <i>Tensiometer Du-Nouy</i> . |
| 10. Timbangan digital      | 20. <i>Hotplate</i> .            |



1. Erlenmeyer



2. Tabung reaksi



3. Jarum ose



4. Spiritus



5. Cawan petri



6. Gelas ukur



7. Magnetic stirrer



8. Timbangan digital



9. Alat sentrifugasi



10. Pipet tetes



11. Inkubator



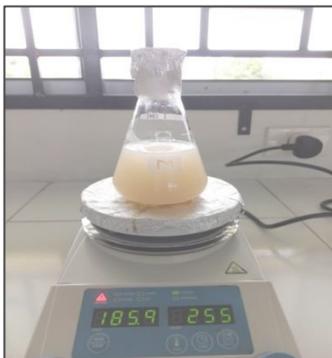
12. *Shaker*



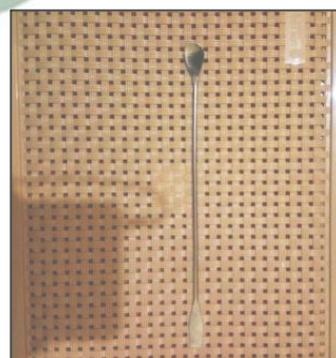
13. *Autoclave*



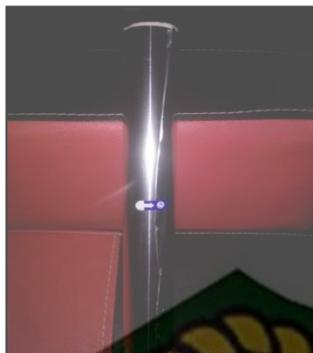
14. *Tensiometer Du-Nouy*



15. *Hotplate*



16. *Spatula*



17. Aluminium foil



18. Mikroskop

**Gambar 3. 1** Alat Penelitian

## 3.2.2 Bahan

1. Isolat murni jamur *Aspergillus niger*
2. Minyak jelantah
3. Paraffin cair
4. Tepung tapioka
5. Amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )
6. Mangan diklorida tetrahidrat ( $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )
7. Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ )
8. Sodium fosfat *dibasic* heptahidrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
9. Magnesium sulfat heptahidrat ( $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )
10. Kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )
11. Agar
12. Akuades.

1. *Aspergillus niger*

2. Minyak jelantah

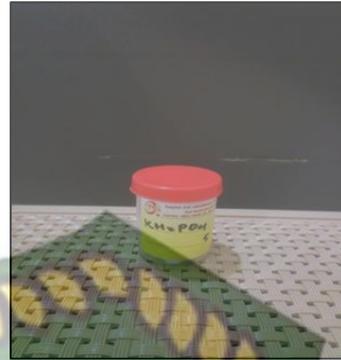


3. Paraffin cair



4. Tepung tapioka

5. Amonium nitrat ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ )6. Mangan diklorida tetrahidrat ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )7. Kalsium klorida ( $\text{CaCl}_2$ )8. Sodium fosfat *dibasic* heptahidrat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )



9. Magnesium sulfat heptahidrat ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )      10. Kalium dihidrogen fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )

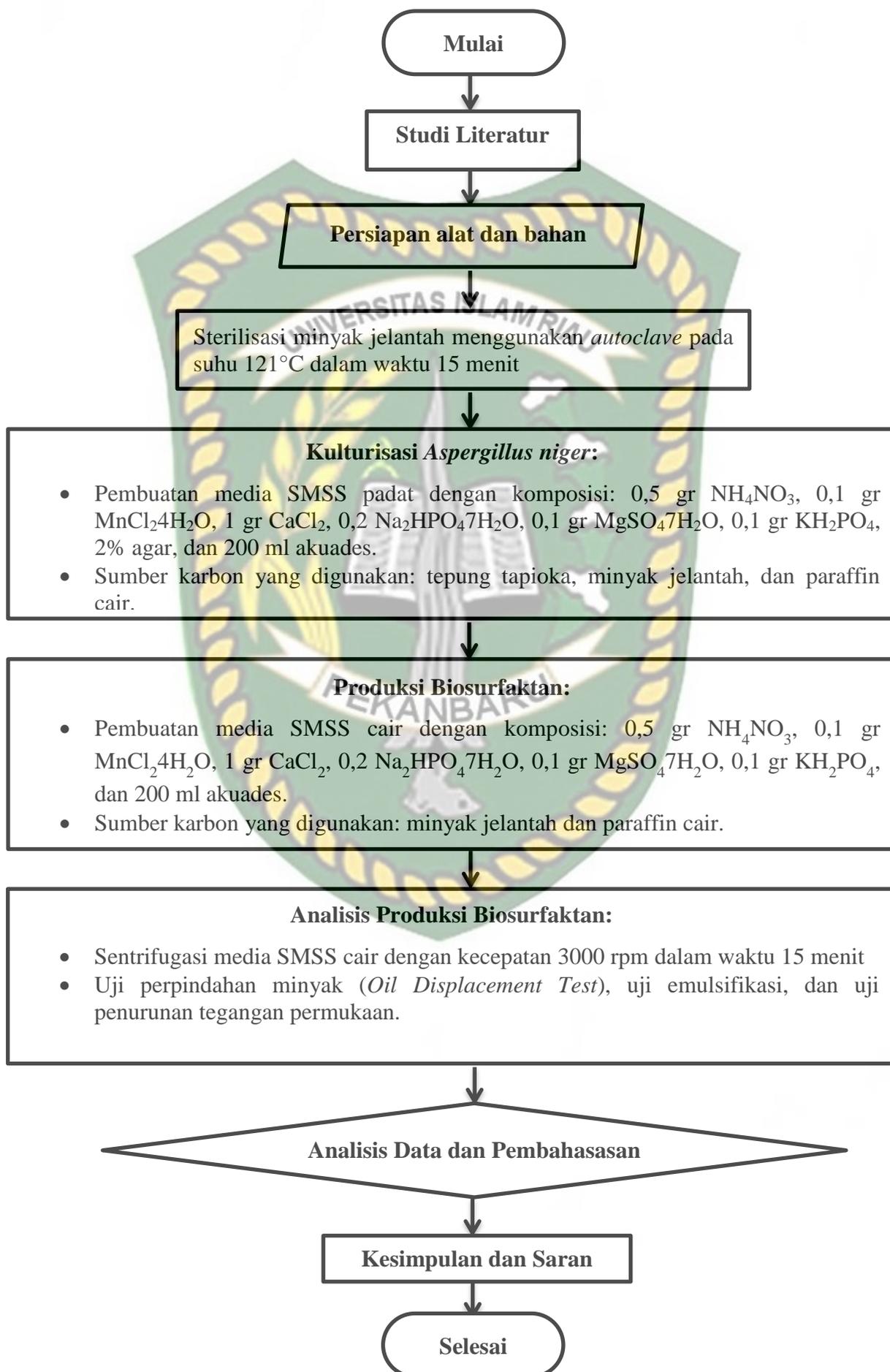


11. Agar

12. Akuades

**Gambar 3. 2** Bahan Penelitian

### 3.3 Diagram Alir Penelitian



### 3.4 Prosedur Penelitian

#### a. *Pretreatment* Minyak Jelantah

Sebelum minyak jelantah digunakan sebagai campuran dalam media tumbuh (SMSS cair), minyak jelantah terlebih dahulu disaring dari kotoran-kotoran bekas penggorengan, kemudian disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C dalam waktu 15 menit (Kartika & Moentamaria, 2020).

#### b. Pembuatan Media *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS) Padat

Media SMSS padat dibuat dengan komposisi 0,5 gr  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0,1 gr  $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 1 gr  $\text{CaCl}_2$ , 0,2  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 gr  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2% agar, dan 200 ml *Aquadest* (Febrianto, 2017). Media dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 200 ml, kemudian dididihkan di atas *hot plate* pada suhu 180°C dengan putaran 300 rpm dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*, kemudian di cek pH nya menggunakan pH meter. Setelah mendidih, larutan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Kartika & Moentamaria, 2020). Pembuatan inokulum *Aspergillus niger* dilakukan dengan menginokulasikan sebanyak 3 ose isolat murni jamur *Aspergillus niger* ke dalam media SMSS padat pada cawan petri, kemudian diinkubasi pada suhu ruang, selama 7 hari. SMSS padat dibuat pada enam cawan petri berbeda dengan masing-masingnya dua cawan petri berisi SMSS padat ditambah 4 gr tepung tapioka, dua cawan petri berisi SMSS ditambah 4 ml minyak jelantah, dan dua cawan petri berisi SMSS padat ditambah 4 ml paraffin cair.

#### c. Pembuatan Media Tumbuh *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS) Cair

Larutan *Stone Mineral Salt Solutions* (SMSS) terbuat dari 0,5 gr  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0,1 gr  $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 1 gr  $\text{CaCl}_2$ , 0,2  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 gr  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 200 ml *Aquadest* (Febrianto, 2017). Media dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* 200 ml, lalu dihomogenkan dengan *magnetic stirrer*, kemudian di cek pH nya menggunakan pH meter. Setelah itu, larutan disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C

selama 15 menit (Kartika & Moentamaria, 2020). Media SMSS cair dibuat pada empat *erlenmeyer* berbeda, dua *erlenmeyer* dimasukkan 16 ml paraffin cair kedalamnya dan dua *erlenmeyer* berikutnya dimasukkan sebanyak 16 ml minyak jelantah pada masing-masingnya.

d. Produksi Biosurfaktan

Sebanyak 3 *spatula* jamur *Aspergillus niger* yang tumbuh pada ketiga media SMSS padat diinokulasikan ke dalam empat *erlenmeyer* yang masing-masingnya berisi 200 ml media tumbuh. *Aspergillus niger* yang tumbuh pada media SMSS padat + tepung tapioka, masing-masingnya diambil sebanyak 3 *spatula* dan dimasukkan ke dalam dua *erlenmeyer* media SMSS cair yang masing-masingnya berisi minyak jelantah dan paraffin cair. Selanjutnya isolat jamur yang tumbuh pada media SMSS padat + minyak jelantah dimasukkan dalam *erlenmeyer* yang berisi media SMSS cair yang berisi minyak jelantah juga. Perlakuan yang sama diterapkan pada isolat jamur yang tumbuh pada media SMSS padat + paraffin cair. Kemudian empat kultur jamur *Aspergillus niger* tersebut di *shaker* pada suhu ruang dengan waktu 1 jam per hari selama 7 hari (M. E. T. Silva *et al.*, 2019).

e. Analisis Poduksi Biosurfaktan

Empat kultur jamur *Aspergillus niger* yang telah diinkubasi dengan *shaker* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan sel dari supernatan. Supernatan yang diperoleh diuji dengan metode *oil displacement test* kemudian dilakukan pengukuran tegangan permukaan dan aktivitas emulsifikasinya.

f. *Oil Displacement Test*

*Oil displacement test* dilakukan dengan cara memasukkan masing-masing 50 ml *aquadest* ke dalam 4 cawan petri berdiameter 15 cm. Setelah itu, 20 mikro liter ( $\mu\text{l}$ ) minyak solar ditetesi ke dalam cawan petri yang berisi *aquadest* hingga membentuk lapisan tipis minyak di atas air. Di tengah lapisan minyak yang terbentuk ditetaskan 10 mikro liter ( $\mu\text{l}$ ) supernatan yang dihasilkan dari kultur jamur *Aspergillus niger* yang telah

dibuat sebelumnya (Gozan *et al.*, 2014). Jika supernatant menghasilkan biosurfaktan maka zona bening akan terbentuk. Diameter zona bening tersebut diukur menggunakan jangka sorong.

g. Uji Emulsifikasi

Uji emulsifikasi dilakukan dengan cara menambahkan 20 ml kerosin ke dalam tabung reaksi yang masing-masingnya berisi 20 ml kultur bebas sel (supernatant). Larutan tersebut kemudian divorteks atau dikocok menggunakan tangan selama 2 menit dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam, lapisan emulsi yang terbentuk bisa diamati secara visual jika biosurfaktan memiliki kemampuan emulsifikasi yang baik. Reaksi emulsifikasi ditandai apabila terbentuk suatu *layer* emulsifikasi antara kerosin dengan media yang berisi Biosurfaktan (Gozan *et al.*, 2014). Indeks emulsifikasi dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$E_{24} = \frac{\text{Tinggi Emulsi}}{\text{Tinggi Total Larutan}} \times 100\%$$

h. Uji Tegangan Permukaan

Pengujian tegangan permukaan dilakukan menggunakan *Tensiometer Du-Nouy*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Afiati *et al.* (2014) supernatant yang telah diperoleh sebelumnya ditempatkan pada botol kaca, gelas ukur, atau cawan petri dan siap dianalisis. Pengukuran dapat dilakukan hingga tiga kali pada suhu ruang untuk memperoleh hasil yang lebih akurat.

### 3.5 Lokasi Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Balai Benih Ikan (BBI) Fakultas Pertanian Universitas Islam Riau dan uji tegangan permukaan dilakukan di laboratorium Kimia-Fisika Universitas Riau. Penelitian diperkirakan dilakukan selama 2 bulan, bisa lebih cepat ataupun lebih lama.

### 3.5 Waktu Penelitian

**Tabel 3. 1 Waktu Penelitian**

No.	Kegiatan	2021-2022								
		10	11	12	1 (2022)	2 (2022)	3 (2022)	4 (2022)	5 (2022)	6 (2022)
1	Studi Literatur									
2	Pembuatan Proposal Penelitian									
3	Persiapan Alat dan Bahan									
4	Pembuatan Media SMSS Padat									
5	Pembuatan Media SMSS Cair									
6	Produksi Biosurfaktan									
7	<i>Oil Displacement Test</i>									
8	Uji Emulsifikasi									
9	Uji Tegangan Permukaan									
10.	Analisis Data									
11.	Laporan Tugas Akhir									

## BAB IV

### PEMBAHASAN

#### 4.1 Media Pertumbuhan Jamur *Aspergillus Niger*

Media pertumbuhan jamur merupakan media yang berisi sejumlah bahan, seperti mineral, karbohidrat, dan air. Campuran sejumlah bahan tersebut berfungsi sebagai nutrisi bagi jamur untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangannya. Secara komersial, media pertumbuhan dibuat sedemikian rupa untuk isolasi dan identifikasi suatu mikroorganisme (Suarjana *et al.*, 2017)

Pada penelitian ini, isolat murni jamur *Aspergillus niger* ditumbuhkan lagi pada dua media, yaitu media padat dan media cair. Media padat dan media cair masing-masingnya memiliki komposisi sama yang terdiri dari 0,5 gr  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 0,1 gr  $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 1 gr  $\text{CaCl}_2$ , 0,2  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 gr  $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 200 ml *Aquadest* (Febrianto, 2017) yang membedakan keduanya hanyalah penambahan 2% agar pada media padat sebagai bahan pematatnya. Media pertumbuhan jamur yang dibuat pada penelitian ini disebut *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS).

Media SMSS mengandung air dan garam mineral seperti yang telah disebutkan sebelumnya. Air dan garam mineral diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan jamur. Mineral adalah bagian dari sel. Unsur utama penyusun sel terdiri dari karbon (C), hidrogen (H), oksigen (O), nitrogen (N), dan fosfor (P). Selain unsur penyusun utama, beberapa mineral lain yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan jamur adalah kalium (K), kalsium (Ca), magnesium (Mg), natrium (Na), sulfur (S), dan klorida (Cl). Unsur yang diperlukan dalam jumlah besar disebut unsur makro, sedangkan unsur yang diperlukan dalam jumlah yang sedikit disebut unsur mikro. Selain berfungsi sebagai penyusun sel, garam mineral juga berfungsi untuk mengatur kadar ion  $\text{H}^+$ , tekanan osmosis, dan potensial oksidasi reduksi (*redox potential*) medium (Mayasari, 2020).

Media *Stone Mineral Salt Solution* (SMSS) tergolong kedalam media pertumbuhan sintesis yang mana susunan senyawa kimianya diperoleh dengan formulasi takaran dan jenisnya yang telah diketahui secara pasti (Suarjana *et al.*, 2017). Media SMSS untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dapat dibuat dalam dua bentuk, yaitu media SMSS padat dan media SMSS cair.

#### 4.1.1 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Jamur

Jamur memiliki beberapa faktor penting yang sangat berpengaruh terhadap pertumbuhan dan perkembangannya. Menurut Gandjar *et al.*, (2006) dalam (Hura, 2015) faktor-faktor penting bagi pertumbuhan dan perkembangan jamur terdiri dari substrat, kelembapan, suhu, derajat keasaman (pH), dan bahan kimia. Berikut penjelasan secara rinci mengenai hal tersebut.

- Substrat

Substrat merupakan sumber nutrisi utama bagi jamur, nutrisi-nutrisi lain baru dapat dimanfaatkan setelah jamur mengekskresikan enzim ekstraseluler yang berguna untuk penguraian senyawa kompleks dari substrat menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Salah satu substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung tapioka, maka jamur harus mampu mengekskresikan enzim  $\alpha$ -amilase yang berfungsi mengubah amilum menjadi glukosa. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Junaini *et al.*, (2019) jamur *Aspergillus niger* mampu menghasilkan enzim amilolitik yang fungsinya mirip dengan enzim  $\alpha$ -amilase dan glukamilase.

Selain tepung tapioka, minyak jelantah juga digunakan sebagai substrat. Minyak jelantah mengandung asam lemak yang tinggi. Oleh karena itu, jamur harus mampu mengekskresikan enzim lipase yang berfungsi untuk menguraikan asam lemak agar dapat diserap oleh mikroorganisme itu sendiri. Menurut Maryanty *et al.*, (2010) *Aspergillus niger* dapat menghasilkan enzim lipase, *acid protease*, *xilanase*, dan *cellulose*.

- Kelembapan

Jamur *Aspergillus niger* mampu tumbuh dengan kelembapan yang lebih rendah dibandingkan jamur *rhizopus* atau *mucor* yang memerlukan lingkungan dengan kelembapan nisbi 90%. Jamur *Aspergillus niger* mampu hidup pada kelembapan nisbi 80% (Hura, 2015).

- Suhu

Berdasarkan suhu untuk pertumbuhannya, jamur terbagi menjadi 3, yaitu psikrofil yang dapat tumbuh pada suhu (0-30°C) dengan suhu optimum pertumbuhannya (15°C), mesofil (10-40°C) suhu optimum pertumbuhannya terletak pada rentang (25-35°C), serta termofil yang hidup pada suhu tinggi (>40°C) dengan suhu optimum pertumbuhannya berada dalam rentang (55-60°C) (Usman & Fitriyaningsih, 2011). *Aspergillus niger* tergolong ke dalam jamur mesofilik karena mampu tumbuh pada suhu optimum (35°C-37°C), minimum (6°C-8°C), dan (45°C-47°C) maksimum (Yunasfi et al., 2020).

- Derajat Keasaman Lingkungan (pH)

Pada umumnya jamur menyukai lingkungan dengan pH di bawah 7, bahkan jenis jamur tertentu dapat tumbuh pada lingkungan dengan pH 4-5,5. Derajat keasaman lingkungan perlu diketahui karena beberapa enzim hanya mampu menguraikan substrat dengan pH tertentu (Hura, 2015). Pada penelitian ini, pH medium cair untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* bernilai 4.

#### 4.1.2 Media SMSS Padat

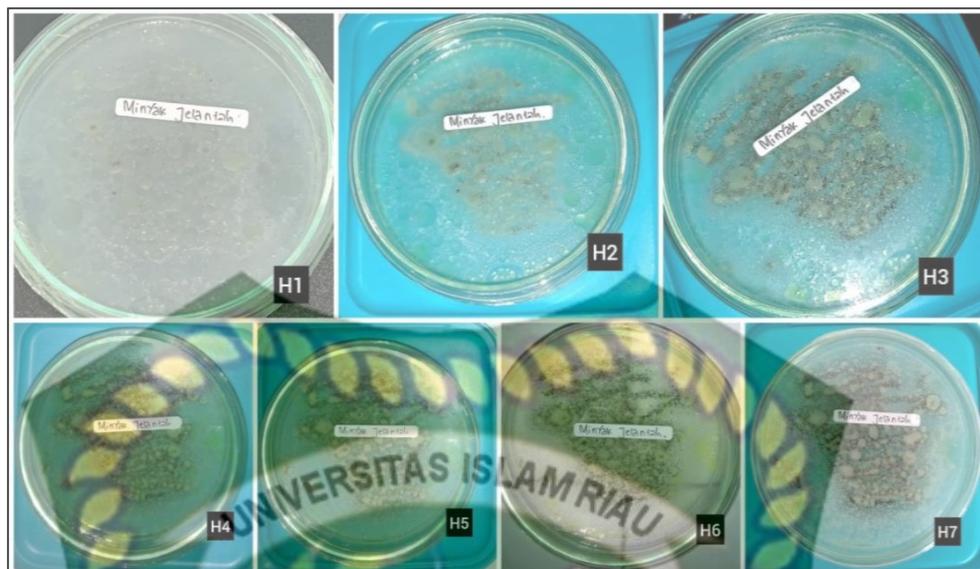
Tahapan pertama dalam penelitian ini adalah pembuatan media SMSS padat. Media SMSS padat dapat digolongkan dalam 3 jenis, yaitu media lempeng, tegak, dan miring. Pada penelitian ini media yang digunakan adalah media lempeng dalam cawan petri. Media lempeng biasanya digunakan untuk mengisolasi mikroorganisme yang kemudian digunakan untuk pengamatan dengan mikroskop dan pertumbuhan jamur dalam media cair (Suarjana et al., 2017).

Pengamatan pertumbuhan jamur dilakukan selama 7 hari. Media padat dibuat sebanyak tiga cawan petri dengan penambahan sumber karbon yang berbeda. Sumber karbon yang ditambahkan berupa minyak jelantah, paraffin cair, dan tepung tapioka. Jamur ditumbuhkan pada suhu ruang dengan nilai pH 4 untuk media tumbuhnya yang berarti larutan SMSS tersebut bersifat asam. Nilai pH diukur menggunakan kertas lakmus.

Pada hari pertama pengamatan, untuk media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka dan paraffin cair pertumbuhan jamur belum terlihat sama sekali. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media SMSS padat dengan setiap sumber karbon terjadi dalam waktu yang berbeda, pada media SMSS padat dengan sumber karbon minyak jelantah pertumbuhan jamur dimulai pada hari kedua, sedangkan pertumbuhan jamur pada media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka dan paraffin cair mulai terlihat pada hari ketiga pengamatan.

- Sumber Karbon Minyak Jelantah

Minyak jelantah menjadi sumber karbon yang baik bagi pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*. Bahan pangan berlemak seperti minyak jelantah yang dipadukan dengan kelembaban dan kadar air tertentu menjadi medium yang baik bagi pertumbuhan jamur (Marlina & Ramdan, 2017). Jamur yang ditumbuhkan pada media padat dengan sumber karbon minyak jelantah mulai menunjukkan perkembangannya pada hari kedua, dimana pertumbuhannya terjadi lebih cepat dibandingkan dengan jamur pada media padat dengan sumber karbon tepung tapioka dan paraffin cair. Pertumbuhan jamur pada media SMSS padat dengan sumber karbon minyak jelantah dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.



**Gambar 4. 1** Pertumbuhan Jamur *Aspergillus niger* pada Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah Selama 7 Hari

Minyak jelantah merupakan minyak yang telah digunakan pada beberapa kali penggorengan. Minyak jelantah tersusun atas gliserida yang memiliki rantai karbon panjang serta asam lemak yang tinggi (Adhari *et al.*, 2016). Minyak jelantah dipilih sebagai sumber karbon pada penelitian ini karena mengandung asam lemak bebas yang tinggi. Asam lemak bebas yang terkandung dalam minyak jelantah merupakan asam lemak jenuh berantai panjang (Sopianti *et al.*, 2017). Asam lemak jenuh mengandung 8 hingga 22 atom karbon (Marlina & Ramdan, 2017). Oleh sebab itu, banyaknya jumlah pertumbuhan jamur pada media padat dengan sumber karbon minyak jelantah berada pada urutan kedua setelah tepung tapioka.

- Sumber Karbon Tepung Tapioka

Tepung tapioka atau tepung singkong merupakan salah satu sumber nutrisi yang baik bagi pertumbuhan jamur (Askari *et al.*, 2018). Dalam 100 gr tepung tapioka terdapat 81,75% karbohidrat. Karbohidrat dibutuhkan sebagai sumber utama untuk metabolisme karbon pada jamur. Unsur yang paling penting dalam pertumbuhan jamur adalah karbon karena karbon merupakan 50% dari berat jamur dan berperan sebagai unsur penyusun sel (Gandjar *et al.*, 2006).

Kandungan karbohidrat dalam tepung tapioka berupa pati atau amilum yang tergolong ke dalam polisakarida. Polisakarida merupakan gabungan puluhan bahkan ribuan glukosa yang berikatan melalui ikatan glikosidik dengan rumus molekul  $(C_6H_{10}O_5)_n$  yang berarti pati atau amilum mengandung begitu banyak atom karbon (Askari *et al.*, 2018). Banyaknya atom karbon yang terkandung dalam tepung tapioka menyebabkan pertumbuhan jamur lebih banyak dibandingkan dengan sumber karbon seperti minyak jelantah dan paraffin cair. Pertumbuhan jamur pada media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka yang diamati selama 7 hari dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



**Gambar 4. 2** Pertumbuhan Jamur *Aspergillus niger* pada Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Tepung Tapioka Selama 7 Hari

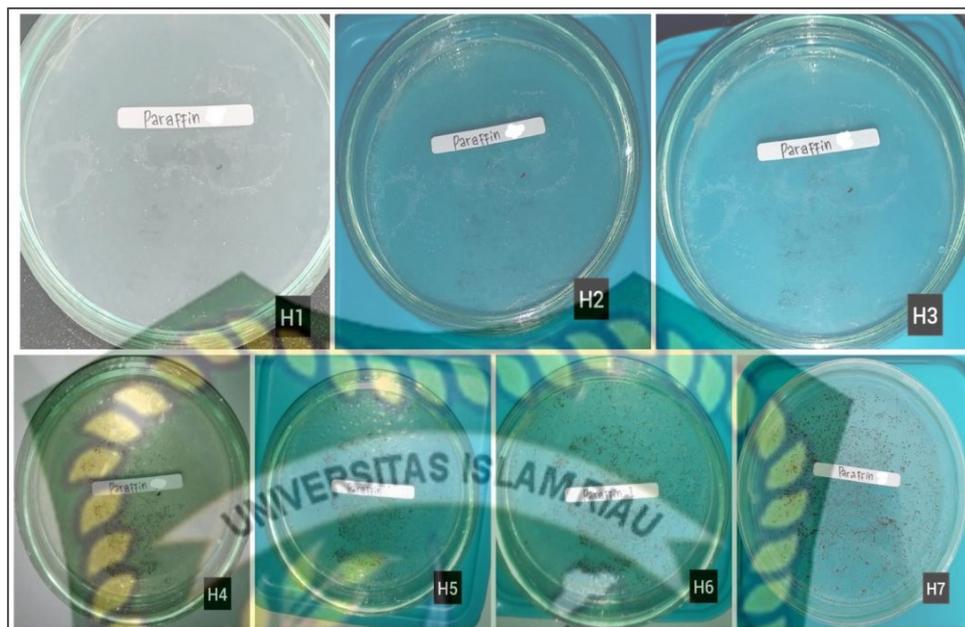
Tepung tapioka sebagai sumber utama pati juga memiliki kandungan lain seperti protein, vitamin (terutama vitamin B), dan mineral (Aswardi *et al.*, 2020). Protein mengandung unsur nitrogen yang berperan sebagai penyusun sel, vitamin berfungsi sebagai katalisator, mineral seperti zat besi dan fosfor dapat mengaktifkan enzim serta terlibat dalam reaksi enzimatik (Askari *et al.*, 2018).

Pertumbuhan jamur yang merata diseluruh permukaan cawan petri media padat dengan sumber karbon tepung tapioka terjadi karena tepung tapioka yang dilarutkan dalam media SMSS tercampur dengan baik sehingga nutrisinya tersebar secara menyeluruh untuk digunakan oleh isolat jamur dalam pertumbuhan dan perkembangannya.

Tepung tapioka menjadi sumber karbon utama yang paling banyak menghasilkan jamur *Aspergillus niger* pada media padat, kemudian minyak jelantah, lalu paraffin cair. Pertumbuhan jamur yang terjadi lebih cepat pada media padat dengan sumber karbon minyak jelantah dikarenakan adanya perbedaan jumlah penggoresan jamurnya, isolat jamur *Aspergillus niger* digoreskan dalam jumlah yang lebih banyak sedangkan untuk media padat dengan sumber karbon tepung tapioka dan paraffin cair jumlah penggoresan yang dilakukan tidak sebanyak yang dilakukan pada media padat dengan sumber karbon minyak jelantah.

- Sumber Karbon Paraffin Cair

Paraffin cair dipilih sebagai sumber karbon dalam penelitian ini karena Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zajic *et al.*, (1977) dalam (Batubara, 2011) mikroorganisme hidrokarbon-klastik mampu menggunakan 4 macam sumber karbon yaitu minyak mentah (*crude oil*), heksadekana, paraffin cair, dan glukosa. Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada media SMSS padat dengan sumber karbon paraffin cair dapat dilihat pada **Gambar 4.3**.



**Gambar 4.3** Pertumbuhan Jamur *Aspergillus niger* pada Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Paraffin Cair Selama 7 Hari

Paraffin cair juga mengandung 10 sampai 16 atom karbon (Nugroho, 2006), hal ini menjadikan paraffin cair baik untuk dijadikan sumber karbon, tetapi tidak lebih baik dibandingkan tepung tapioka dan minyak jelantah karena kedua sumber karbon tersebut mengandung karbon yang lebih banyak dibandingkan paraffin cair. Oleh sebab itu, kecepatan dan banyaknya jumlah pertumbuhan jamur pada media padat dengan sumber karbon paraffin cair berada pada urutan ketiga, setelah tepung tapioka dan minyak jelantah.

Pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* pada tiga cawan petri yang masing-masingnya telah ditambahkan sumber karbon menunjukkan hasil yang baik. Salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan jamur adalah nutrisi atau sumber karbon. Nutrisi berperan penting sebagai pembangun sel, sumber energi, dan aseptor elektron dalam reaksi untuk menghasilkan energi (Askari *et al.*, 2018).

Selain sumber karbon dan faktor lain seperti yang telah disebutkan sebelumnya, nilai pH juga berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus niger*. *Aspergillus niger* dapat tumbuh dengan baik pada medium dengan pH asam (Wuryanti, 2008), hal ini sesuai dengan hasil

pengukuran pH medium pada penelitian ini, yaitu sebesar 4 yang berarti medium pertumbuhan jamur bersifat asam. Dalam penelitian ini, jamur *Aspergillus niger* yang ditumbuhkan pada media padat dapat tumbuh dengan baik pada suhu kamar sehingga tidak perlu dimasukkan ke dalam inkubator.

#### 4.1.3 Media SMSS Cair

Tahapan kedua dalam penelitian ini adalah menumbuhkan jamur *Aspergillus niger* pada medium cair. Media tumbuh cair biasanya digunakan untuk mengamati sifat pertumbuhan jamur atau bakteri seperti menjadi keruh, adanya endapan pasir, membentuk untaian rambut atau caput medusa (Suarjana *et al.*, 2017).

Media SMSS cair memiliki komposisi yang sama dengan SMSS padat begitu pula sumber karbon yang digunakan, hanya saja untuk media SMSS cair tidak ditambahkan agar sebagai bahan pematat. Nilai pH media SMSS cair ini juga sama seperti media SMSS padat, yaitu 4. Jamur yang digunakan pada tahap kedua ini berasal dari jamur yang tumbuh pada tahap pertama. Hal ini dilakukan untuk membuktikan apakah jamur yang tumbuh pada media SMSS padat mampu tumbuh pada media SMSS cair yang memiliki komposisi bahan-bahan kimia dan sumber karbon yang sama pula.

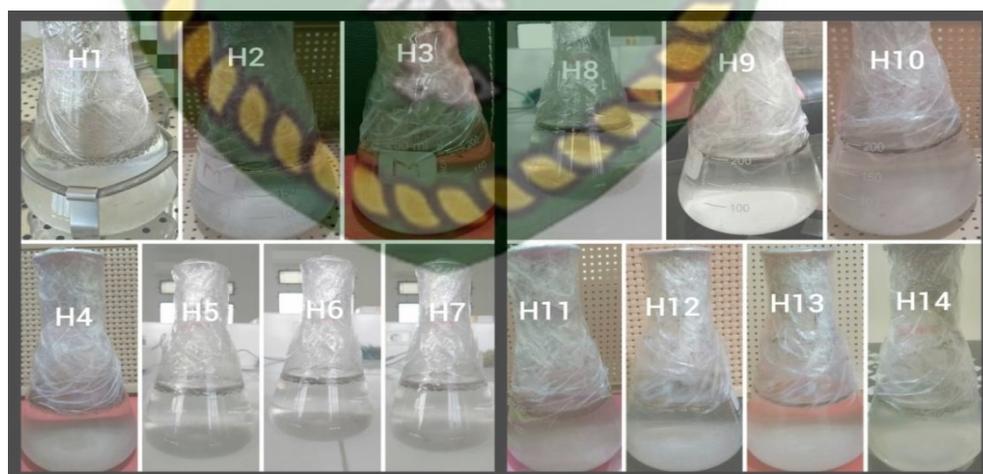
Pengamatan pertumbuhan jamur pada medium cair dilakukan selama 14 hari yang berarti membutuhkan waktu yang lebih lama dibandingkan dengan masa pertumbuhan jamur pada media SMSS padat. Optimalnya waktu pertumbuhan jamur adalah 7-14 hari, sehingga tidak akan terjadi masalah bila pengamatan pertumbuhan jamur dilakukan selama rentang waktu tersebut.

Pengamatan pada hari pertama hingga hari ketiga tidak menunjukkan perubahan yang signifikan, hanya terjadi perubahan warna media menjadi lebih keruh. Pada hari keempat hingga hari keempat belas terjadi perubahan yang semakin mencolok. Pada hari ketujuh pengamatan ditemukan adanya pertumbuhan jamur pada bagian luar *erlenmeyer*, yaitu pada bagian *aluminium foil* yang berfungsi sebagai penutup bagian mulut *erlenmeyer*, *plastic wrap*, dan isolasi yang berfungsi sebagai penutup dan perekat pada

bagian atas *erlenmeyer* agar media cair untuk pertumbuhan jamur tidak terkontaminasi dan tidak tumpah saat terjadi guncangan.

Pertumbuhan jamur pada media cair ditandai dengan munculnya benda seperti kapas atau serabut kecil berwarna putih dan melayang-layang dalam media, tidak hanya berwarna putih tetapi juga bisa berwarna coklat kehitaman. Benda seperti kapas tersebut merupakan konidia tunggal atau spora yang telah tumbuh menjadi miselium. Pertumbuhan jamur dapat menyebabkan perubahan warna media, media yang sebelumnya bening dapat berubah menjadi keruh dan media yang sebelumnya keruh dapat menjadi bening.

Perubahan yang terjadi pada media dengan sumber karbon paraffin cair dan jamur dari media padat dengan sumber karbon yang sama, yaitu paraffin cair dapat dilihat pada **Gambar 4.4**, pada hari ke-14 larutan menjadi lebih keruh dari hari-hari sebelumnya, tidak terjadi perubahan warna, larutan tetap berwarna putih, jamur tumbuh dan melayang-layang dalam media dengan bentuk seperti kapas yang sangat kecil berwarna hitam dan putih, serta terdapat endapan bahan-bahan kimia yang digunakan pada awal pembuatan media cair yang tidak larut sempurna pada bagian bawahnya.



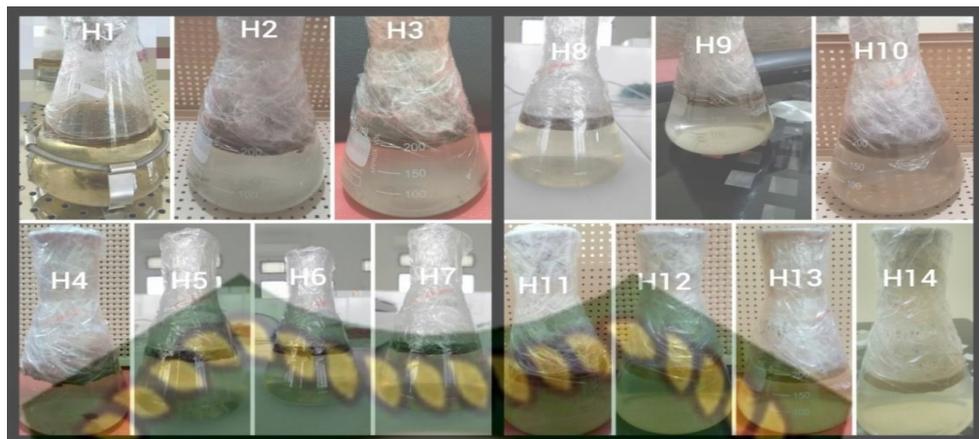
**Gambar 4. 4** Pertumbuhan Jamur *Aspergillus niger* pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Paraffin Cair + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Paraffin Cair Selama 14 Hari

Perubahan yang terjadi pada media yang berisi sumber karbon paraffin cair ditambah jamur yang diambil dari media padat dengan sumber karbon tepung tapioka ditunjukkan oleh **Gambar 4.5**, pada hari ke-14 warna larutan menjadi semakin keruh, berwarna kuning kecoklatan, jamur yang berbentuk seperti kapas berwarna coklat dan hitam tumbuh serta melayang-layang dalam media, jamur juga mengendap pada bagian bawah larutan.



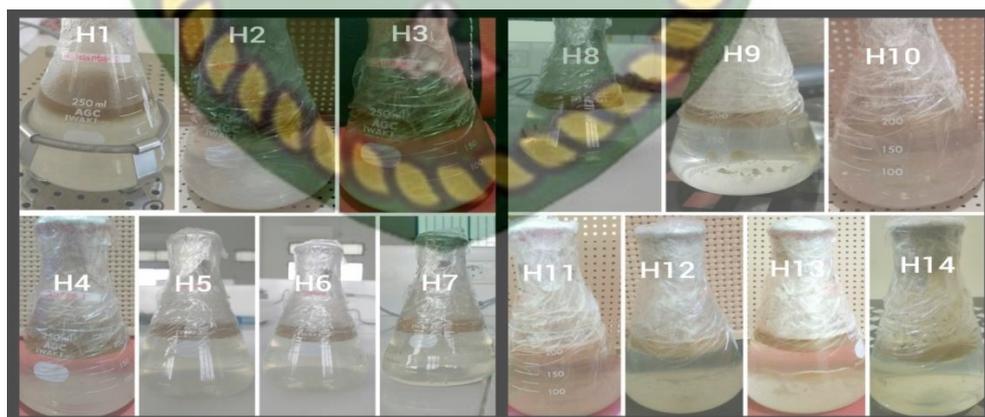
**Gambar 4.5** Pertumbuhan Jamur *Aspergillus niger* pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Paraffin Cair + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Tepung Tapioka Selama 14 Hari

Hasil pengamatan yang dilakukan pada media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah dan jamur dari media padat dengan sumber karbon tepung tapioka dapat dilihat pada **Gambar 4.6**, pada hari ke-14 terjadi perubahan warna larutan menjadi kekuningan dan sedikit lebih keruh dari larutan yang awalnya terlihat lebih bening, terdapat gumpalan-gumpalan dan buih minyak jelantah bercampur jamur berwarna coklat gelap pada bagian atas media cair dan dinding *erlenmeyer*.



**Gambar 4. 6** Pertumbuhan Jamur *Aspergillus niger* pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Tepung Tapioka Selama 14 Hari

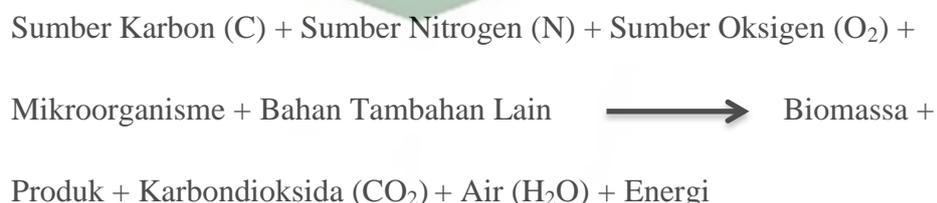
Perubahan larutan pada media cair dengan tambahan sumber karbon minyak jelantah dan jamur dari media padat dengan sumber karbon yang sama, yaitu minyak jelantah ditunjukkan oleh **Gambar 4.7**, pada hari ke-14 terjadi perubahan warna larutan yang menjadi lebih keruh jika dibandingkan dengan hari-hari sebelumnya, larutan berwarna kuning terang, terdapat gumpalan dan buih minyak jelantah berwarna kuning keemasan pada bagian atas larutan serta di sisi kiri dan kanan dinding *erlenmeyer*.



**Gambar 4. 7** Pertumbuhan Jamur *Aspergillus niger* pada Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah + Jamur dari Media SMSS Padat dengan Sumber Karbon Minyak Jelantah Selama 14 Hari

Pertumbuhan mikroorganismen dalam media cair maupun media padat mempengaruhi produksi biosurfaktan. Pertumbuhan mikroorganismen terbagi dalam beberapa fase. Setelah inokulasi jamur dari media padat ke media cair jamur masuk pada fase adaptasi, pada fase ini sel jamur tidak akan langsung tumbuh atau belum terlihat adanya pertumbuhan. Fase adaptasi pada penelitian ini terjadi pada hari ke 1-2. Setelah fase adaptasi, sel akan memasuki fase eksponensial, yang mana pada fase ini sel terus bertambah dengan kecepatan maksimum. fase eksponensial pada penelitian ini terjadi pada hari ke 3-10, kemudian setelah sel mencapai kecepatan tumbuh maksimum, pertumbuhan sel jamur akan masuk pada tahap stasioner dimana pada tahap ini jumlah sel jamur akan tetap. Fase stasioner terjadi pada hari ke 11-13. Penurunan jumlah sel terjadi setelah fase stasioner, fase ini disebut fase kematian fase kematian terjadi pada hari ke 14.

Produk metabolit primer seperti sel, protein, asam nukleat, asam amino, nukleotida karbohidrat, dan lipida merupakan produk hasil dari fase-fase yang telah melewati sebelumnya. Fase pembentukan produk metabolit primer ini disebut dengan tropofase. Pembentukan metabolit sekunder seperti Biosurfaktan, Polimer, atau produk lainnya terjadi pada tahap idiofase. Metabolit sekunder terbentuk pada fase stasioner. Selama fase stasioner, beberapa *strain* mikroorganismen menyintesis senyawa yang tidak dihasilkan selama tropofase (Batubara, 2011). **Gambar 4.8** merupakan skema hubungan pemanfaatan substrat, pertumbuhan sel, dan pembentukan biosurfaktan (Ruzniza, 2005 dalam Batubara, 2011).



**Gambar 4. 8** Skema Hubungan Pemanfaatan Substrat, Pertumbuhan Sel, dan Pembentukan Biosurfaktan

#### 4.2 Struktur Mikroskopis Jamur *Aspergillus Niger*

*Aspergillus niger* merupakan salah satu jamur yang mudah ditemukan, jamur ini dapat ditemukan pada daerah tropis maupun subtropis. Selain itu, *Aspergillus niger* juga dapat diisolasi dari berbagai macam substrat, seperti biji-bijian, hidrokarbon, dan tanah (Marlinda *et al.*, 2017).

Ciri-ciri jamur *Aspergillus niger* yaitu, mempunyai warna dasar kuning atau putih, lapisan konidiospora yang tebal, kepala konidia yang bulat dan besar, berwarna ungu coklat, hitam, atau coklat kehitaman, rantai konidia berwarna coklat, hijau, atau hitam, miselium bercabang, dan hifa septat (Wuryanti, 2008). Di bawah ini merupakan struktur jamur *Aspergillus niger* yang diamati menggunakan mikroskop digital.



(a) Sumber karbon minyak jelantah      (b) Sumber karbon paraffin cair      (c) Sumber karbon tepung tapioka

**Gambar 4. 9** Struktur Mikroskopis Jamur *Aspergillus Niger* dengan Sumber Karbon Berbeda

Jamur yang tumbuh pada media SMSS padat dengan sumber karbon minyak jelantah, tepung tapioka, dan paraffin cair diamati strukturnya menggunakan mikroskop digital. Sebelum melakukan pengamatan, akuades ditetaskan pada kaca preparat menggunakan pipet tetes kemudian jamur yang tumbuh pada cawan petri diambil secukupnya menggunakan spatula dan diletakkan di atas kaca preparat yang sebelumnya telah ditetesi akuades, setelah itu pengamatan dengan mikroskop bisa langsung dilakukan. Pengamatan dilakukan dengan perbesaran 10x hingga bagian-bagian jamur yang tidak terlihat dapat dilihat dengan jelas.

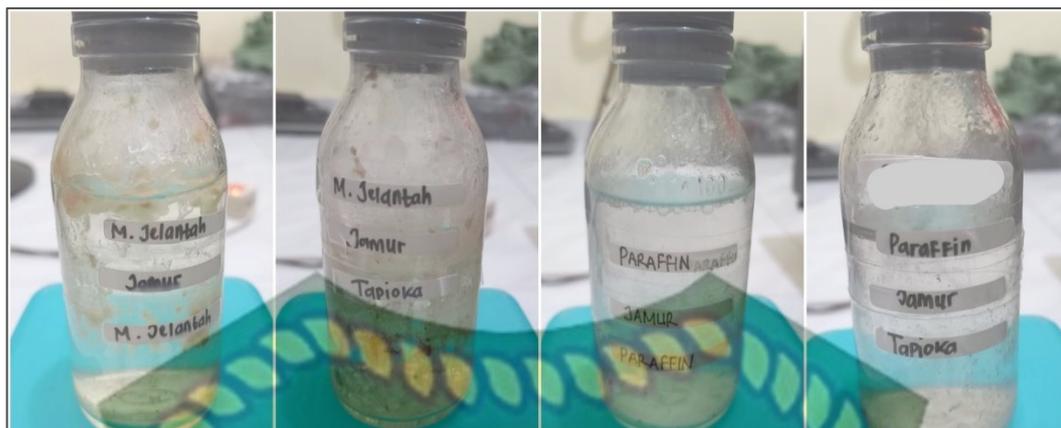
Struktur yang terlihat begitu jelas pada jamur *Aspergillus niger* dengan sumber karbon minyak jelantah dan tepung tapioka merupakan konidia yang berbentuk bulat berwarna hitam dan konidiofor yang berbentuk panjang seperti tangkai bunga berwarna putih bening. Struktur jamur *Aspergillus niger* yang terlihat pada mikroskop digital sesuai dengan ciri-ciri yang disebutkan oleh (Wuryanti, 2008).

Pada jamur dengan sumber karbon paraffin cair, yang terlihat hanya spora dan hifa hialin yang memanjang, tidak bercabang dan berwarna bening, hal ini bisa saja terjadi karena pada saat pengamatan dilakukan jamur yang tumbuh pada media dengan sumber karbon paraffin cair masih sangat sedikit dan berukuran lebih kecil dibandingkan dengan jamur yang mengandung sumber karbon minyak jelantah dan tepung tapioka sehingga konidia dan konidiofornya tidak terlihat.

#### 4.3 Analisis Produksi Biosurfaktan

Produksi Biosurfaktan dari jamur *Aspergillus niger* dipengaruhi oleh sumber karbon, sumber nitrogen, dan mineral yang terkandung dalam media SMSS. Sumber karbon, nitrogen, dan mineral yang berbeda akan mempengaruhi kualitas dan jumlah Biosurfaktan yang dihasilkan (Batubara, 2011). Penggunaan sumber karbon minyak jelantah dan paraffin cair memberikan hasil yang berbeda untuk uji emulsifikasi, *oil displacement test*, dan uji tegangan permukaannya.

Produksi Biosurfaktan pada penelitian ini dilakukan pada suhu ruang (25-30°C) hal ini didasarkan oleh pernyataan Kitamoto, dkk (2001) dalam (Rengga et al., 2018) yang menyatakan bahwa sebagian besar produksi Biosurfaktan telah dilakukan pada variasi suhu 25-30°C. Biosurfaktan diproduksi dengan cara melakukan sentrifugasi pada media SMSS cair yang telah ditambahkan jamur dari media SMSS padat dan sumber karbon. Sentrifugasi dilakukan selama 15 menit dengan *centrifuge* dan kecepatan putaran 3000 rpm pada suhu ruang. Supernatan yang dihasilkan dari proses sentrifugasi dimasukkan ke dalam botol vial agar lebih aman dan terjaga untuk dilakukan uji aktivitas emulsifikasi, *oil displacement test*, dan uji penurunan tegangan permukaan. Hasil sentrifugasi keempat sampel ditunjukkan pada **Gambar 4.10**.



(a) Sampel 1

(b) Sampel 2

(c) Sampel 3

(d) Sampel 4

**Gambar 4. 10** Produk Metabolit Sekunder dari Medium SMSS Cair Setelah Sentrifugasi

Sumber karbon yang digunakan untuk produksi Biosurfaktan pada medium cair adalah minyak jelantah dan paraffin cair, sedangkan tepung tapioka hanya digunakan sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan jamur pada medium padat, hal ini dikarenakan untuk produksi Biosurfaktan diperlukan sisi hidrofobik dan sisi hidrofilik. Sisi hidrofilik dalam proses produksi Biosurfaktan adalah akuades yang telah dicampurkan dengan sumber nitrogen dan mineral lain, sedangkan untuk sisi hidrofobiknya digunakan minyak jelantah dan paraffin cair.

Tepung tapioka tidak dapat menjadi sisi hidrofobik untuk produksi Biosurfaktan karena tepung tapioka akan larut ketika dicampurkan dengan air atau dengan kata lain tepung tapioka bersifat hidrofilik dan pada suhu yang rendah tepung tapioka yang dilarutkan dalam air akan menjadi kental. Jamur yang tumbuh pada medium padat dengan sumber karbon tepung tapioka digunakan untuk produksi Biosurfaktan pada medium cair dengan penambahan sumber karbon paraffin cair dan minyak jelantah pada medium cairnya. Biosurfaktan yang dihasilkan oleh keempat sampel menunjukkan kualitas yang berbeda.

Minyak jelantah dipilih sebagai sumber karbon pada penelitian ini karena mengandung asam lemak bebas yang tinggi. Asam lemak bebas yang terkandung dalam minyak jelantah merupakan asam lemak jenuh berantai panjang (*Sopianti et al.*, 2017) Asam lemak jenuh mengandung 8 hingga 22 atom karbon (Marlina &

Ramdan, 2017). Oleh sebab itu, jumlah pertumbuhan jamur pada media padat dengan sumber karbon minyak jelantah berada pada urutan kedua setelah tepung tapioka. Bahan pangan berlemak seperti minyak jelantah yang dipadukan dengan kelembaban dan kadar air tertentu menjadi medium yang baik bagi pertumbuhan jamur (Marlina & Ramdan, 2017).

Minyak jelantah sebagai komponen hidrofobik yang digunakan pada produksi Biosurfaktan pada medium cair mampu menstimulasi *Aspergillus niger* untuk memproduksi Biosurfaktan dengan cara memanfaatkan minyak jelantah itu sendiri sebagai sumber nutrisi untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Praharyawan, 2013). Selain itu, *Aspergillus niger* juga mampu menghasilkan enzim lipase yang dapat menguraikan trigliserida yang ada pada minyak jelantah menjadi asam lemak bebas dan gliserol (Marlina & Ramdan, 2017). Semakin banyak asam lemak bebas yang ada, maka akan semakin bagus untuk pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* baik pada medium padat maupun cair.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Zajic *et al.*, (1977) dalam (Batubara, 2011) mikroorganisme hidrokarbon-klastik mampu menggunakan 4 macam sumber karbon yaitu minyak mentah (*crude oil*), heksadekana, paraffin cair, dan glukosa. Nugroho (2006) dalam penelitian yang telah dilakukannya telah memperoleh penurunan tegangan permukaan yang signifikan seiring dengan penambahan konsentrasi paraffin cair pada media kulturnya. Oleh karena itu, paraffin cair dipilih sebagai salah satu sumber karbon pada penelitian ini. Paraffin cair mengandung 10 sampai 16 atom karbon (Nugroho, 2006), hal ini menjadikan paraffin cair baik untuk dijadikan sumber karbon, tetapi tidak lebih baik dibandingkan tepung tapioka dan minyak jelantah karena kedua sumber karbon tersebut mengandung karbon yang lebih banyak dibandingkan paraffin cair. Oleh sebab itu, kecepatan dan banyaknya jumlah pertumbuhan jamur pada media padat dengan sumber karbon paraffin cair berada pada urutan ketiga, setelah tepung tapioka dan minyak jelantah.

Sumber nitrogen yang digunakan dalam penelitian ini adalah *amonium nitrat* ( $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ). *Amonium nitrat* merupakan salah satu sumber nitrogen yang baik untuk produksi Biosurfaktan karena ada kandungan *nitrat* didalamnya (Batubara, 2011). Menurut Abouseoud (2007) dalam (Batubara, 2011) *amonium*

*nitrat* dan *sodium nitrat* adalah sumber nitrogen terbaik untuk pertumbuhan mikroorganisme dan sintesis Biosurfaktan, tetapi akan terlihat perbedaannya jika divariasikan pada sumber karbon yang berbeda. Pada penelitian ini hanya digunakan *amonium nitrat* sebagai sumber nitrogen dengan sumber karbon yang berbeda. Perbedaan sumber karbon yang digunakan inilah yang mempengaruhi kualitas Biosurfaktan yang dihasilkan.

Mikroorganisme memiliki batasan dalam menggunakan sumber karbon yang didapatkan. Tidak semua mikroorganisme mampu mendegradasi semua jenis hidrokarbon atau sumber karbon yang ada, termasuk *Aspergillus niger* yang digunakan dalam penelitian ini. Hal tersebut mempengaruhi jumlah dan kualitas Biosurfaktan yang terbentuk. Ada mikroorganisme yang hanya mampu memproduksi Biosurfaktan dengan sumber karbon yang hidrofobik, hidrokarbon, minyak sayuran, karbohidrat, atau menggunakan sumber karbon yang dikombinasikan. Oleh karena itu, tidak semua mikroorganisme mampu menghasilkan Biosurfaktan atau menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang baik (Batubara, 2011).

Kuantitas dan kualitas Biosurfaktan dipengaruhi oleh kemampuan mikroorganisme dalam menggunakan sumber karbon dari substrat pertumbuhannya. Hal tersebut dapat dilihat dari aktivitas emulsifikasi yang berbeda, besar kecilnya nilai zona jernih yang terbentuk pada saat uji perpindahan minyak, dan kemampuan Biosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan kultur (Hamida, 2010).

Produksi Biosurfaktan pada medium cair oleh jamur *Aspergillus niger* dengan penambahan sumber karbon minyak jelantah dan paraffin cair dapat dikatakan berhasil meskipun tidak menghasilkan biosurfaktan dengan kualitas yang sangat baik. Kualitas Biosurfaktan yang dihasilkan oleh jamur *Aspergillus niger* dengan penambahan sumber karbon minyak jelantah dan paraffin cair pada medium cair pertumbuhannya dibuktikan dengan hasil uji emulsifikasi, uji tegangan permukaan, dan uji perpindahan minyak yang dilakukan pada penelitian ini.

#### 4.3.1 Uji Perpindahan Minyak (*Oil Displacement Test*)

Hasil uji perpindahan minyak pada penelitian ini dapat dilihat pada **Gambar 4.11**. Pengujian yang dilakukan pada cawan petri berisi akuades yang telah ditetesi minyak solar menunjukkan terbentuknya zona jernih setelah ditetaskan supernatan yang berasal dari semua sampel. Terbentuknya zona jernih menunjukkan bahwa setiap supernatan mampu menghasilkan Biosurfaktan (Rahayu & Prasetyo, 2020). Zona jernih yang terbentuk pada penelitian ini menunjukkan bentuk yang berbeda-beda untuk setiap sampel. Adanya perbedaan zona jernih yang terbentuk diakibatkan oleh kualitas Biosurfaktan yang dihasilkan. Biosurfaktan yang terbentuk memiliki kualitas yang berbeda karena penambahan sumber karbon yang berbeda pula.

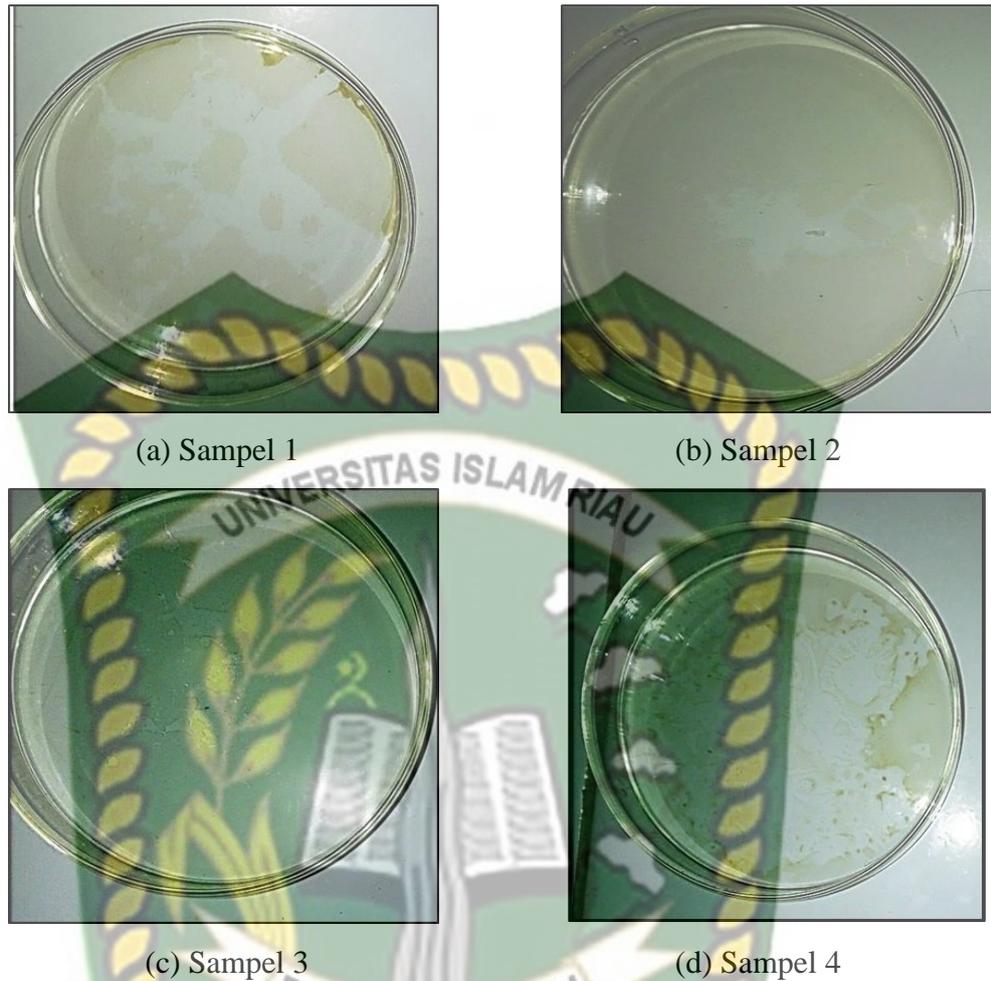
Pada penelitian ini, Biosurfaktan terbaik adalah Biosurfaktan yang dihasilkan dari medium SMSS cair dengan sumber karbon paraffin cair dan penambahan jamur dari medium SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka. Hal ini dibuktikan dari nilai ODA yang terbentuk dari supernatan yang dihasilkan dari media tersebut. Nilai *Oil Displacement Area* (ODA) yang terbentuk merupakan salah satu kriteria untuk menentukan mikroorganisme dan sumber karbon yang paling baik untuk digunakan sebagai agen produksi Biosurfaktan (Rahayu & Prasetyo, 2020).

Uji perpindahan minyak pada penelitian ini menunjukkan hasil yang positif dengan terbentuknya zona jernih atau zona perpindahan minyak. Adanya zona jernih minyak yang terbentuk berbanding lurus dengan adanya senyawa aktif permukaan Biosurfaktan di dalam larutan, dapat dilihat pada **Gambar 4.11**. Nilai *Oil Displacement Area* (ODA) dari hasil uji perpindahan minyak dapat dilihat pada **Tabel 4.1**. Nilai ODA paling tinggi diberikan oleh Biosurfaktan pada sampel 4 yaitu sebesar 6 cm, kemudian Biosurfaktan dari sampel 1 (4,1 cm), sampel 2 (3,6 cm) dan sampel 3 dengan nilai ODA paling rendah, yaitu (2,4 cm). Pada penelitian yang dilakukan oleh (Praharyawan, 2013) Biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus sp* dengan sumber karbon minyak jelantah menunjukkan hasil uji perpindahan minyak yang baik dengan nilai ODA sebesar 5,95 cm.

Hal tersebut menunjukkan bahwa baik atau buruknya kualitas suatu Biosurfaktan juga berhubungan dengan mikroorganismenya yang digunakan meskipun dengan sumber karbon yang sama.

**Tabel 4. 1** Nilai *Oil Displacement Area* (ODA)

No.	Supernatan	Nilai <i>Oil Displacement Area</i> (ODA) (cm)
1.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon minyak jelantah <b>(Sampel 1)</b>	4,1
2.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka <b>(Sampel 2)</b>	3,6
3.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak paraffin cair + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon paraffin cair <b>(Sampel 3)</b>	2,4
4	Media SMSS cair dengan sumber karbon paraffin cair + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka <b>(Sampel 4)</b>	6



**Gambar 4. 11** Hasil Uji Perpindahan Minyak dengan Supernatan dari Media SMSS Cair yang Telah Disentrifugasi

Zona jernih yang tidak berbentuk bulat sempurna pada saat melakukan uji perpindahan minyak disebabkan oleh Biosurfaktan yang dihasilkan kurang baik sehingga pengukuran nilai ODA nya menjadi lebih sulit. Pengukuran diameter zona jernih pada penelitian ini dilakukan menggunakan jangka sorong digital dan dihitung dengan persamaan yang telah dilampirkan pada **Tabel 4.1** dan **Lampiran 2**.

### 4.3.2 Uji Aktivitas Emulsifikasi

Terbentuknya emulsifikasi minyak oleh Biosurfaktan terjadi karena adanya ikatan antara gugus hidrofobik dari tetes minyak dan gugus hidrofilik dari Biosurfaktan dengan membentuk struktur misel yang berukuran mikron sehingga minyak terdispersi dalam larutan dan terjadi emulsifikasi antara minyak-Biosurfaktan, dan air (Suryatmana *et al.* 2006 dalam Hamida 2010). Emulsifikasi yang terbentuk perlu diukur untuk dijadikan parameter penilaian kualitas Biosurfaktan yang dihasilkan. Pengukuran indeks emulsifikasi pada penelitian ini menggunakan metode Cooper dan Goldenberg (1987) yang dimodifikasi. Uji emulsifikasi dilakukan menggunakan 20 ml kerosin dan 20 ml supernatan yang dimasukkan kedalam 4 botol vial pada suhu ruang kemudian diguncang dengan tangan selama 2 menit dan dibiarkan hingga 24 jam.

Hasil uji emulsifikasi pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 4.2**, sampel 4 menjadi Biosurfaktan yang memiliki nilai indeks emulsifikasi paling besar, yaitu 51,3 %. Sampel 4 merupakan Biosurfaktan yang diperoleh dari medium cair dengan sumber karbon paraffin cair dan ditambahkan jamur dari medium padat dengan sumber karbon tepung tapioka. Setelah sampel 4, indeks emulsifikasi sampel 3 menjadi yang terbesar kedua dengan nilai 28%. Sampel 3 mengandung Biosurfaktan yang diproduksi pada medium cair dengan sumber karbon paraffin cair dan penambahan jamur dari medium padat dengan sumber karbon yang sama. kemudian yang terakhir sampel 1 dan 2 yang memiliki nilai indeks emulsifikasi yang sama, yaitu 13%. Sampel 1 dan 2 merupakan Biosurfaktan yang diproduksi pada medium cair dengan sumber karbon minyak jelantah dan penambahan jamur dari medium padat dengan sumber karbon minyak jelantah (sampel 1) dan tepung tapioka (sampel 2).

**Tabel 4. 2** Nilai Indeks Emulsifikasi Biosurfaktan + Kerosin

No	Supernatan	Nilai Indeks Emulsifikasi (%)	
1.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon minyak jelantah ( <b>Sampel 1</b> )	(+/-)	13%
2.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka ( <b>Sampel 2</b> )	(+/-)	13%
3.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak paraffin cair + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon paraffin cair ( <b>Sampel 3</b> )	(+/-)	28%
4.	Media SMSS cair dengan sumber karbon paraffin cair + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka ( <b>Sampel 4</b> )	(+)	51,3 %

Keterangan :

- (-) = Tidak terjadi emulsifikasi
- (+/-) = Emulsifikasi terjadi sedikit
- (+) = Emulsifikasi terjadi sedang
- (++) = Emulsifikasi terjadi banyak

Biosurfaktan terbaik dihasilkan oleh sampel 4, hal ini terbukti dari kemampuannya menghasilkan emulsi pada uji emulsifikasi dengan kerosin. Sebelumnya telah dilakukan uji perpindahan minyak dengan hasil yang menunjukkan bahwa sampel 4 menghasilkan Biosurfaktan dengan kemampuan yang lebih baik dibandingkan dengan sampel 1,2, dan 3. Produksi Biosurfaktan lebih optimal pada sampel 4 karena jamur yang digunakan berasal dari medium padat dengan sumber karbon tepung tapioka yang memiliki kandungan karbon yang tinggi (Askari *et al.*, 2018) sehingga

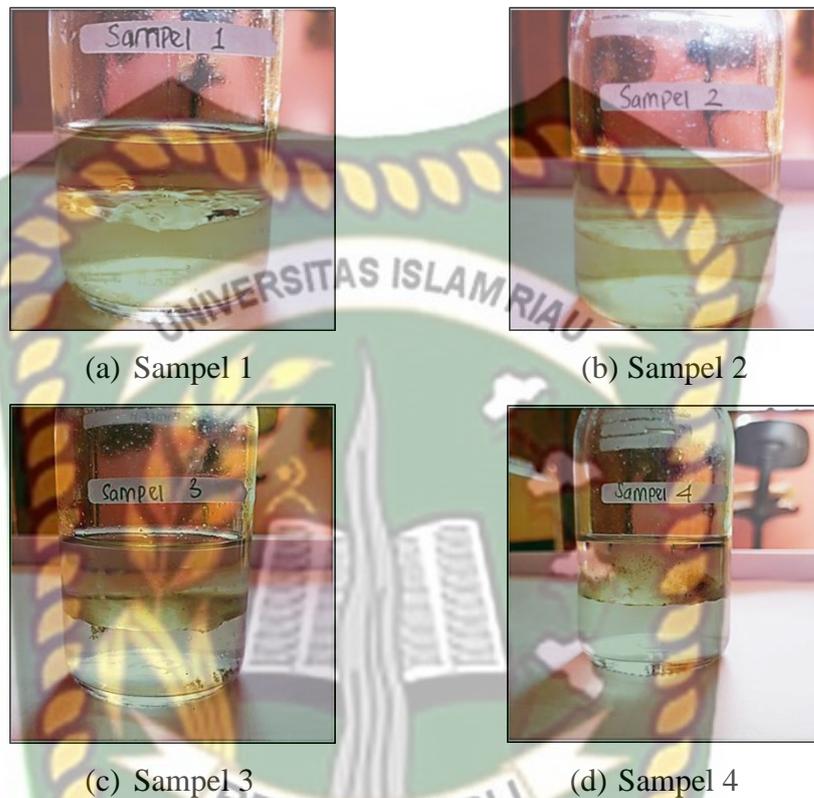
digunakan secara maksimal oleh *Aspergillus niger* untuk pertumbuhan selnya. Pada medium cairnya ditambahkan sumber karbon paraffin cair yang digunakan lebih banyak untuk produksi Biosurfaktan (Zajic *et al.*, 1977; Sheehan, 1997 dalam Nugroho, 2006).

Sampel 3 tidak menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang lebih baik dibandingkan dengan sampel 4, tetapi jika dibandingkan dengan sampel 1 dan 2 Biosurfaktan pada sampel 3 memiliki kemampuan emulsifikasi dan penurunan tegangan permukaan yang lebih baik, hal ini dikarenakan paraffin cair mempunyai 10-16 atom karbon sehingga mudah didegradasi oleh mikroba (Nugroho, 2006). Paraffin cair yang digunakan pada medium padat telah digunakan secara maksimal oleh *Aspergillus niger* untuk pertumbuhannya, tetapi karena paraffin cair tidak mengandung karbon sebanyak tepung tapioka, jumlah pertumbuhan selnya tidak lebih banyak dibandingkan pertumbuhan jamur pada media dengan sumber karbon tepung tapioka. Paraffin cair yang terkandung dalam medium cair digunakan untuk produksi Biosurfaktan tetapi masih harus digunakan lagi untuk menunjang pembentukan sel sehingga tidak bisa digunakan secara maksimal dalam memproduksi Biosurfaktan.

Sampel 1 dan 2 menggunakan minyak jelantah yang mengandung asam lemak dengan 8 hingga 22 atom karbon pada medium cairnya. Minyak jelantah yang digunakan sebagai sumber karbon pada penelitian ini tidak memberikan hasil yang begitu baik untuk produksi Biosurfaktan. Hasil uji emulsifikasi untuk sampel 1 dan 2 adalah 13% yang menunjukkan bahwa Biosurfaktan yang diproduksi memiliki kualitas yang kurang baik karena Biosurfaktan yang baik adalah Biosurfaktan yang memiliki indeks emulsifikasi paling besar yang berarti biosurfaktan mempunyai kestabilan emulsi yang besar pula (Gozan *et al.*, 2014).

Mikroorganisme memiliki batasan jumlah dalam menggunakan sumber karbon untuk produksi Biosurfaktan, sehingga sangat mungkin dalam penelitian ini *Aspergillus niger* tidak dapat mendegradasi karbon-karbon yang ada pada minyak jelantah (Batubara, 2011). Oleh karena itu, Biosurfaktan yang dihasilkan memiliki nilai indeks emulsifikasi yang kecil.

Rendahnya indeks emulsifikasi yang dihasilkan menunjukkan kualitas Biosurfaktan yang kurang baik. Hasil uji emulsifikasi Biosurfaktan dengan kerosin dapat dilihat pada **Gambar 4.15**.



**Gambar 4. 12** Uji Emulsifikasi dengan Supernatan dari Media SMSS Cair dengan Sumber Karbon Paraffin Cair dan Minyak Jelantah

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Praharyawan (2013) Biosurfaktan dengan agen produksi bakteri *Bacillus sp* dengan sumber karbon minyak jelantah memiliki indeks emulsifikasi sebesar 55,39%. Dalam penelitian lain, *Aspergillus niger* mampu menghasilkan Biosurfaktan dengan indeks emulsifikasi sebesar 78% dengan menggunakan sumber karbon minyak kedelai pada penelitian yang dilakukan oleh M. E. T. Silva *et al.* (2019). Hal ini menjadi salah satu alasan untuk menggunakan *Aspergillus niger* sebagai mikroorganisme penghasil Biosurfaktan dengan penambahan sumber karbon minyak jelantah meskipun kualitas Biosurfaktan yang didapatkan tidak cukup baik. Perbedaan kemampuan setiap mikroorganisme untuk menyerap nutrisi yang ditambahkan pada

proses produksi Biosurfaktan menyebabkan kualitas Biosurfaktan yang didapatkan berbeda-beda. Selain faktor-faktor yang telah disebutkan sebelumnya, suhu dan pH juga berpengaruh pada kemampuan emulsifikasi Biosurfaktan yang terbentuk (Praharyawan, 2013).

#### 4.3.3 Uji Tegangan Permukaan

Metode yang digunakan untuk pengujian tegangan permukaan pada penelitian ini adalah metode Tensiometer *Du-Nouy*. Prinsip kerja Tensiometer *Du-Nouy* adalah melepaskan cincin yang tercelup dalam zat cair dengan gaya yang sebanding terhadap tegangan permukaan dan tegangan antarmuka. Gaya yang dibutuhkan untuk melepaskan cincin tersebut dalam hal ini diberikan oleh kawat torsi (Juliyanto *et al.*, n.d.).

Uji tegangan permukaan dilakukan dengan memasukkan supernatan yang diperoleh dari proses sentrifugasi ke dalam cawan petri, kemudian cincin yang terdapat pada Tensiometer ditempatkan pada sampel supernatan yang telah disiapkan, lalu tegangan diatur hingga cincinnya terlepas secara spontan, angka yang tertera pada Tensiometer dapat langsung dicatat. Pengujian tegangan permukaan dilakukan setiap 1 jam dengan 3 kali pengulangan pada suhu ruang untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat (Afiati *et al.*, 2014). Hasil pengukuran tegangan permukaan dengan metode cincin *Du-Nouy* dapat dilihat pada **Tabel 4.4**.

**Tabel 4. 3** Hasil Uji Tegangan Permukaan Menggunakan Tensiometer *Du-Nouy*

No.	Supernatan	Tegangan Permukaan (N/m) dengan 3 kali pengulangan		
		Jam ke-1	Jam ke-2	Jam ke-3
1.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon minyak jelantah ( <b>Sampel 1</b> )	63,5	63,5	63,3
2.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka ( <b>Sampel 2</b> )	63,5	63,5	63,2
3.	Media SMSS cair dengan sumber karbon minyak paraffin cair + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon paraffin cair ( <b>Sampel 3</b> )	65,8	63,2	61,6
4.	Media SMSS cair dengan sumber karbon paraffin cair + jamur dari media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka ( <b>Sampel 4</b> )	53,5	53,2	51

Akuades yang digunakan dalam penelitian ini memiliki nilai tegangan permukaan sebesar 71,5 N/m. Akuades yang menjadi bahan dasar produksi Biosurfaktan pada media cair mengalami penurunan tegangan permukaan setelah dicampurkan dengan sumber karbon, nitrogen, mineral, dan isolat jamur *Aspergillus niger*. Pada sampel 1 Biosurfaktan yang dihasilkan mampu menurunkan tegangan permukaan sebesar 8,2 N/m, Biosurfaktan pada sampel 2 mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 8,3 N/m,

tegangan permukaan untuk sampel 3 turun sebesar 10 dyne/cm, dan untuk sampel 4 Biosurfaktan mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 20,5 N/m. Penurunan tegangan permukaan paling tinggi terjadi pada sampel 4, kemudian sampel 3, sampel 2, dan sampel 1 yang memiliki nilai penurunan tegangan permukaan paling rendah. Menurut Walter *et al.* (2010) dalam (Sari *et al.*, 2014) Biosurfaktan yang baik mampu menurunkan tegangan permukaan sebesar  $\geq 20$  N/m dibandingkan dengan tegangan permukaan akuades. Pada penelitian ini Biosurfaktan dari sampel 4 mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 20,5 N/m sehingga dapat dikatakan bahwa sampel 4 merupakan Biosurfaktan dengan kualitas yang baik.

Biosurfaktan dengan penurunan tegangan permukaan paling tinggi adalah Biosurfaktan yang diproduksi dari medium cair dengan sumber karbon paraffin cair dan jamur yang diambil dari medium padat dengan sumber karbon tepung tapioka (sampel 4). Tingginya tingkat penurunan tegangan permukaan dari Biosurfaktan pada sampel 4 ini dikarenakan kandungan nutrisinya, terutama sumber karbon. Kandungan karbohidrat dalam tepung tapioka adalah polisakarida dengan jumlah yang besar. Polisakarida merupakan gabungan puluhan bahkan ribuan glukosa yang berikatan melalui ikatan glikosidik dengan rumus molekul  $(C_6H_{10}O_5)_n$  yang berarti pati atau amilum mengandung begitu banyak atom karbon (Askari *et al.*, 2018).

Sumber karbon dari tepung tapioka digunakan secara maksimal oleh jamur *Aspergillus niger* untuk pertumbuhannya, sehingga pada saat digunakan untuk produksi Biosurfaktan pada medium yang telah ditambahkan paraffin cair, *Aspergillus niger* hanya menggunakan karbon pada paraffin cair dalam jumlah yang lebih sedikit. Karbon yang terdapat pada paraffin cair digunakan lebih banyak untuk produksi Biosurfaktan (Zajic *et al.*, 1977; Sheehan, 1997 dalam Nugroho, 2006).

Penggunaan paraffin cair sebagai sumber karbon didasari oleh penelitian yang dilakukan oleh Nugroho (2006) dengan agen produksi beberapa bakteri hidrokarbon-klastik, seperti *Bacillus badius*, *Bacillus circulans*, *Bacillus coagulans*, *Bacillus firmus*, *Pasteurella avium*, dan *Streptobacillus moniliformis* yang mampu menurunkan tegangan permukaan dengan lebih baik dibanding glukosa dan heksadekana, yaitu 8,34 N/m. Menurut Sen & Swaminathan (2004) untuk mendapatkan produksi Biosurfaktan yang optimal, maka mikroorganisme harus dibiakkan pada kondisi lingkungan dan medium pertumbuhan yang optimal pula.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh M. E. T. Silva *et al.* (2019) jamur *Aspergillus niger* yang diisolasi dari tumbuhan *piper hispidum* dengan penambahan sumber karbon minyak kedelai pada media tumbuhnya mampu menghasilkan Biosurfaktan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat jamur *Aspergillus niger* dapat menghasilkan Biosurfaktan yang cukup signifikan dalam menurunkan tegangan permukaan hingga 24,4 N/m. Tegangan permukaan yang awalnya sebesar 68,4 N/m menjadi 44 dyne/cm. Penelitian serupa juga dilakukan oleh Awaludin & Sari (2017) untuk menghasilkan Biosurfaktan dengan agen produksi *Pseudomonas aeruginosa* dan sumber karbon minyak jelantah. Dari penelitian yang dilakukan, diperoleh Biosurfaktan yang mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 22,46 N/m.

Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Praharyawan (2013) minyak jelantah digunakan sebagai sumber karbon untuk menghasilkan Biosurfaktan dengan agen produksi bakteri *Bacillus sp.* Bakteri *Bacillus sp* dengan penambahan sumber karbon minyak jelantah mampu menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang baik. Biosurfaktan yang dihasilkan mampu menurunkan tegangan permukaan hingga 30,2 N/m. Tegangan permukaan awal adalah 71,5 N/m dan tegangan permukaan akhir sebesar 41,3 N/m. Banyaknya penelitian serupa yang telah dilakukan sebelumnya cukup menjadi alasan yang kuat mengapa penelitian ini perlu dilakukan. *Aspergillus niger* yang dipilih sebagai mikroorganisme serta minyak jelantah yang digunakan sebagai sumber karbon sangat berpotensi dan

mampu menghasilkan Biosurfaktan meskipun dengan kualitas yang kurang baik.

Hasil uji tegangan permukaan yang terdapat pada **Tabel 4.3** menunjukkan terjadinya penurunan tegangan permukaan pada sampel 1 dari 63,5 N/m menjadi 63,3 N/m, untuk sampel 2 juga terjadi penurunan tegangan permukaan dari 63,5 N/m menjadi 63,2 N/m. Sampel 3 mengalami penurunan tegangan permukaan dari 65,8 N/m menjadi 61,6 N/m. Pada sampel 4 terjadi penurunan tegangan permukaan dari 53,5 N/m menjadi 52 N/m. Semua sampel yang diuji mengalami penurunan tegangan permukaan. Penurunan tegangan permukaan pada masing-masing sampel terjadi karena media biakan jamur *Aspergillus niger* menghasilkan Biosurfaktan yang mempunyai sifat aktif permukaan. Biosurfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan antara dua fase karena molekulnya cenderung terhadap kedua fase sehingga membuat keduanya dapat saling bercampur. Kedua fase tidak dapat saling terlarut karena memiliki kepolaran yang berbeda (Najiyah *et al.*, 2013).

Penurunan tegangan permukaan pada sampel 1, sampel 2, sampel 3, dan sampel 4 tidak begitu signifikan pada jam ke-2 hingga ke-3. Pada jam ke-2 hingga jam ke-3 tegangan permukaan untuk sampel 1 hanya berkurang 0,2 N/m, pada sampel 2 berkurang hingga 0,3 N/m, untuk sampel 3 terjadi penurunan tegangan permukaan sebesar 1,6 N/m, dan untuk sampel 4 penurunan tegangan permukaannya adalah 2,2 N/m. Sedikitnya penurunan tegangan permukaan yang terjadi untuk semua sampel pada jam ke-2 dan ke-3 dikarenakan pada jam tersebut tegangan permukaan telah mencapai konsentrasi misel kritis (Najiyah *et al.*, 2013). Konsentrasi misel kritis adalah kelarutan Biosurfaktan dalam fase cair atau konsentrasi minimum yang dibutuhkan untuk mencapai nilai tegangan permukaan (Najiyah *et al.*, 2013).

Faktor-faktor yang mempengaruhi penurunan tegangan permukaan selain penambahan Surfaktan atau Biosurfaktan adalah suhu, zat terlarut (*solute*), konsentrasi zat terlarut, dan jenis cairan. Nilai tegangan permukaan suatu zat cair akan menurun ketika terjadi kenaikan suhu, hal ini terjadi

karena saat suhu meningkat, energi molekul juga meningkat. Zat terlarut (*solute*) dapat menurunkan tegangan permukaan apabila membentuk lapisan *monomolecular* pada permukaan cairan, contoh zat ini adalah Surfaktan atau Biosurfaktan. Jenis cairan juga mempengaruhi tegangan permukaan, cairan yang gaya tarik antar molekulnya kecil maka tegangan permukaannya akan kecil, contohnya bensin. Jika cairan memiliki gaya tarik antar molekul yang besar maka tegangan permukaan juga akan besar, misalnya air. Konsentrasi zat terlarut (*solute*) yang ditambahkan dalam larutan akan menurunkan tegangan permukaan karena mempunyai konsentrasi di permukaan yang lebih besar daripada di dalam larutan (Juliyanto *et al.*, n.d.).



Dokumen ini adalah Arsip Miik :

Perpustakaan Universitas Islam Riau

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan tentang Analisis kemampuan isolat jamur *Aspergillus niger* dengan penambahan sumber karbon pada media tumbuh dalam menghasilkan Biosurfaktan untuk alternatif MEOR dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolat jamur *Aspergillus niger* yang ditumbuhkan pada media SMSS cair dengan penambahan sumber karbon pada media tumbuhnya mampu menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang berbeda. Biosurfaktan terbaik dihasilkan oleh isolat jamur *Aspergillus niger* yang ditumbuhkan pada media SMSS cair dengan penambahan sumber karbon paraffin cair dan jamur yang diambil berasal dari media SMSS padat dengan sumber karbon tepung tapioka (sampel 4), sedangkan Biosurfaktan yang kurang baik dihasilkan oleh isolat jamur *Aspergillus niger* yang ditumbuhkan pada media SMSS cair dengan sumber karbon minyak jelantah dan jamur yang diambil berasal dari media SMSS padat dengan sumber karbon minyak jelantah (sampel 1) dan tepung tapioka (sampel 2), kemudian biosurfaktan yang berasal dari media SMSS cair dengan penambahan paraffin cair sebagai sumber karbonnya dan jamur yang diambil berasal dari media SMSS padat dengan sumber karbon paraffin cair (sampel 3).
2. Biosurfaktan dari setiap sampel dengan sumber karbon yang berbeda mampu membentuk zona bening yang tidak bulat sempurna karena perbedaan sumber karbon dalam media tumbuhnya. Nilai *Oil Displacement Area* (ODA) paling tinggi diberikan oleh sampel 4 dengan nilai (6 cm), kemudian sampel 1 (4,1 cm), sampel 2 (3,6 cm), dan sampel 3 (2,4 cm).
3. Biosurfaktan dari setiap sampel dengan penambahan sumber karbon berbeda dapat membentuk emulsi. Hasil uji emulsifikasi Biosurfaktan dengan kerosin didapatkan menggunakan rumus indeks emulsifikasi (E24). Indeks emulsifikasi paling besar diberikan oleh Biosurfaktan dari

sampel 4 dengan nilai (51,3%), kemudian sampel 3 (28%), serta sampel 1 dan 2 (13%).

4. Biosurfaktan dari setiap sampel dengan penambahan sumber karbon berbeda mampu menurunkan tegangan permukaan. Hasil pengujian penurunan tegangan permukaan paling tinggi diberikan oleh Biosurfaktan dari sampel 4 (20,5 N/m), kemudian sampel 3 (10 N/m), sampel 2 (8,3 N/m), dan sampel 1 (8,2 N/m). Pengujian penurunan tegangan permukaan juga dilakukan sebanyak 3 kali untuk mendapatkan hasil yang lebih akurat dengan nilai penurunan tegangan permukaan paling tinggi diberikan oleh sampel 4 (2,2 N/m), kemudian sampel 3 (1,6 N/m), sampel 2 dan sampel 1 sebesar (0,3 N/m).

## 5.2 Saran

1. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan untuk menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang lebih baik dan untuk membuktikan apakah dengan penambahan suhu pada saat kulturisasi serta penambahan nilai pH pada saat pembuatan media SMSS, jamur *Aspergillus niger* dapat tumbuh lebih banyak dan menghasilkan Biosurfaktan dengan kualitas yang lebih baik pula.
2. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan menggunakan sumber nitrogen yang berbeda untuk membandingkan kualitas Biosurfaktan yang dihasilkan.
3. Penelitian selanjutnya perlu dilakukan dengan berbagai tingkatan suhu untuk membuktikan kemampuan emulsifikasi Biosurfaktan dari jamur *Aspergillus niger* dengan suhu terbaik.

## DAFTAR PUSTAKA

Al-Qur'an Al-Karim.

- Abdurrahman, M., Permadi, A. K., Bae, W., & Masduki, A. (2017). EOR in Indonesia : Past, Present, and Future. *International Journal of Oil Gas and Coal Technology*, 16(3), 1–22. <https://doi.org/10.1504/IJOGCT.2017.10007432>
- Adhari, H., Yusnimar, & Utami, S. P. (2016). Pemanfaatan Minyak Jelantah Menjadi Biodiesel dengan Katalis ZnO Presipitan Zinc Karbonat : Pengaruh Waktu dan Jumlah Katalis. *Jurnal of Microbiology FTEKNIK*, 3(2), 1–7.
- Afiati, F., Sari, M., & Kusharyoto, W. (2014). Aktivitas Biosurfaktan dari Bakteri Lumpur Minyak MFS3. *Seminar Nasional XI Pendidikan Biologi FKIP UNS*, 378–382.
- Ali, S., Ul-Haq, I., M.A, Q., & Iqbal, J. (2002). Production of Citric Acid by *Aspergillus niger* Using Cane Molasses in a Stirred Fermentor. *Electric Journal of Biotechnology*, 5(3), 258–271.
- Alpentri, Juli, N., & Siregar, S. (2001). Evaluasi Kemampuan Isolat Jamur dari Salah Satu Sumur Minyak di Minas dalam Mendegradasi Minyak Bumi. *Proceeding Simposium Nasional IATMI 2001*, 1–6.
- Amelia, N., & Titah, H. S. (2021). Kajian Pengaruh Penggunaan Biosurfaktan Rhamnolipida dan Surfaktin pada Proses Bioremediasi Tanah Tercemar Crude Oil. *Jurnal Teknik ITS*, 10(2), 1–6.
- Arfiyah Febriani, N., & Yuniarni, L. (2019). Inisiasi Etika Eksplorasi Pertambangan Perspektif Al-Qur'an. *Journal of Islamic Education*, 1(2), 373–392.
- Asgher, M., Arshad, S., Ahmad, S., & Nimrah, Q. (2020). Improved biosurfactant production from *Aspergillus niger* through chemical mutagenesis : characterization and RSM optimization. *SN Applied Sciences a Springer Nature Journal*, 2(5), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-2783-3>

Askari, M., Isworo, J. T., & Wilson, W. (2018). *Tepung Singkong sebagai Media Pertumbuhan Jamur Candida albicans*.

Aswardi, A., Gevira, Z., Cindy, C., Putri, M. D., Putri, F. H., & Taqwa, F. H. (2020). Pemanfaatan Tepung Tapioka sebagai Alternatif Substitusi Molase dalam Budidaya Ikan Nila Sistem Bioflok di Lahan Suboptimal. In S. Herlinda (Ed.), *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal ke-8 Tahun 2020* (hal. 978–979). Universitas Sriwijaya.

Awaludin, N., & Sari, C. N. (2017). Variation of Carbon Sources in Producing Rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa* for Microbial Enhanced Oil Recover's Application. *Jurnal Lemigas*, 40(1), 33–40.

Banat, I. M., Makkar, R. S., Assocaites, G., & Cameotra, S. S. (2000). Potential Commercial Applications of Microbial Surfactants. *Appl Microbial Biotechnology*, June, 496–508. <https://doi.org/10.1007/s002530051648>

Batubara, N. R. (2011). *Optimasi Produksi Biosurfaktan oleh Pseudomonas aeruginosa dengan Variasi Sumber Karbon dan Nitrogen*. Universitas Sumatera Utara.

Bryant, R. S. (1990). *Screening Criteria for Microbial EOR Processes*.

Cut, A. H. (2018). Strategi Penguatan Pengelolaan Bersama Minyak dan Gas Bumi di Wilayah Laut. *Jurnal Konstitusi*, 15(36), 141–163.

D.L, T. R., & Mulyana, N. (2013). Bioremediasi Lahan Tercemar Limbah Lumpur Minyak Menggunakan Campuran Bulking Agents yang Diperkaya Konsorsia Mikroba Berbasis Kompos Iradiasi. *Jurnal Ilmiah Aplikasi Isotop dan Radiasi*, 9(2), 139–150.

Das, P., & Mukherjee, S. (2008). Biotechnology and Genetic Engineering Reviews: Genetic Regulations of the Biosynthesis of Microbial Surfactants : An Overview. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 25, 37–41. <https://doi.org/10.5661/bger-25-165>

- Dewantari, N. R. A., Besung, I. N. K., & Sampurna, I. P. (2016). Pengaruh Pemberian Mineral Terhadap Jumlah Bakteri *Eschericia coli* dan Coliform pada Sapi Bali di Dataran Tinggi dan Dataran Rendah. *Buletin Veteriner Udayana*, 8(1), 71–78.
- Donaldson, E. C., Knapp, R. M., Yen, T. F., & Chilingarian, G. V. (1989). THE SUBSURFACE ENVIRONMENT. In *Developments in Petroleum Science* (Vol. 22, hal. 15–36). [https://doi.org/10.1016/S0376-7361\(09\)70090-1](https://doi.org/10.1016/S0376-7361(09)70090-1)
- Febrianto, P. (2017). *Isolasi Jamur dari Tanah Bengkel Motor Sebagai Pendegradasi Limbah Senyawa Hidrokarbon*. Universitas Sumatera Utara.
- Gandjar, I., Sjamsuridzal, W., & Oetari, A. (2006). *Mikologi Dasar dan Terapan*. Buku Obor.
- Gozan, M., Fatimah, I. N., Nanda, C., & Haris, A. (2014). Produksi Biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi. *Journal of Agro-based Industry*, 31(2), 39–44.
- Hamida, F. (2010). *Pengaruh Konsentrasi Crude Gliserol (Limbah Biodiesel) Terhadap Pertumbuhan *Lysinibacillus sphaericus* strain HytAP-B60 dan Indeks Emusifikasi Biosurfaktan yang Dihasilkannya*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Herawati, H. (2010). Potensi pengembangan produk pati tahan cerna sebagai pangan fungsional. *Jurnal Litbang Pertanian*, 30(1), 31–39.
- Hura, H. M. (2015). *Analisis Keberadaan *Candida albicans* dan *Aspergillus spp.* Serta Keluhan Kesehatan dan Perilaku Penjual Tentang Bahaya Kesehatan pada Pakaian Bekas di Pasar Melati Kelurahan Tanjung Selamat Kecamatan Medan Tuntungan Kota Medan Tahun 2015*. Universitas Sumatera Utara.
- Irma. (2015). *Optimasi Media Pertumbuhan *Aspergillus Niger* Dengan Menggunakan Tepung Singkong*. UIN ALAUDDIN MAKASSAR.

- Juliyanto, E., Rofingah, J., Sejati, A. F., & Hakim, F. N. (n.d.). Menentukan Tegangan Permukaan Zat Cair. *Jurnal Kajian Pendidikan Sains*, 176–186.
- Junaini, Elvinawati, & Sumpono. (2019). Pengaruh Kadar *Aspergillus niger* Terhadap Produksi Bioetanol dari Bonggol Pisang Kepok (*Musa paradisiaca* L.). *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*, 3(2), 176–184.
- Kartika, R., & Moentamaria, D. (2020). Telaah Pustaka : Pembuatan Biosurfaktan Menggunakan Minyak Jelantah oleh Bakteri *Bacillus Subtilis*. *Distilat Jurnal Teknologi Separasi*, 6(2), 504–511.
- Laini, R. E., Napoleon, A., & Munawar. (2014). Isolasi Bakteri Termofilik Penghasil Biosurfaktan yang Berpotensi sebagai Agen MEOR (Microbial Enhanced Oil Recovery) dari Sumur Minyak di Sungai Angit. *Jurnal Penelitian Sains*, 17(1), 17103-9 sampai 17103-13.
- Marlina, L., & Ramdan, I. (2017). Identifikasi Kadar Asam Lemak Bebas pada Berbagai Jenis Minyak Goreng Nabati. *TEDC Bandung*, 11(1), 53–59.
- Marlinda, Ramli, & Nadir, M. (2017). Pengaruh Penambahan Starter *Aspergillus Niger* Terhadap Konsentrasi Asam Itakonat dengan Substrat Gliserol dan Molase. *Seminar Nasional Sains dan Teknologi*, 1–10.
- Maryanty, Y., Pristianti, H., & Ruliawati, P. (2010). Produksi Crude Lipase dari *Aspergillus niger* Pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat. *Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses*, 1–6.
- Mayasari, U. (2020). *Diktat Mikrobiologi*.
- Naiola, E., & Widhyastuti, N. (2002). Isolasi, Seleksi, dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Berita Biologi*, 6(3), 467–473.
- Najiyah, D., Hidayati, N. V., & Sari, C. N. (2013). Manfaat Surfaktan dari Bakteri Laut Hidrokarbonoklastik untuk Akselerator Proses Hidrokarbon Minyak Bumi. *Lembaran Publikasi Minyak dan Gas Bumi*, 47(2), 97–104.

- Nanda, C., & Kussuryani, Y. (2013). Seleksi Mikroba dan Nutrisi yang Berpotensi Menghasilkan Biosurfaktan untuk MEOR. *Lembaran Publikasi Minyak dan Gas Bumi*, 47(2), 59–67.
- Neu, T. R. (1996). Significance of Bacterial Surface-Active Compounds in Interaction of Bacteria with Interfaces. *Microbiological Reviews*, 60(1), 151–166.
- Nugroho, A. (2006). Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Pengguna Hidrokarbon dengan Penambahan Variasi Sumber Karbon. *Biodiversitas*, 7(4), 312–316. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d070403>
- Nugroho, A. (2009). Produksi Gas Hasil Biodegradasi Minyak Bumi : Kajian Awal Aplikasinya Dalam Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR). *Makara, Sains*, 13(2), 111–116.
- Praharyawan, S. (2013). *Penentuan Komponen Media Signifikan untuk Produksi Biosurfaktan dari Bakteri DSW17 Menggunakan Desain Eksperimen Plackett-Burman dan Aplikasinya Sebagai Bahan Pengawet Makanan*. Insitut Pertanian Bogor.
- Primaryadi, I. N. B., Anggreni, A. A. M. D., & Wartini, N. M. (2015). Pengaruh Penambahan Magnesium Sulfat Heptahidrat dan Feri Klorida pada Blue Green Medium-11 Terhadap Konsentrasi Biomassa Mikroalga *Tetraselmis chuii*. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 3(2), 92–100.
- Purnama Sari, L. (2019). *Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri dengan Menggunakan Umbi Ubi Jalar Cilembu (Ipomoea batatas (L.) Lam) untuk Bakteri Lactobacillus acidophilus, Salmonella typhii dan Escherichia coli*. Universitas Sumatera Utara.
- Rahayu, Y. P., & Prasetyo, H. A. (2020). Uji Aktivitas Bakteri Keratinolitik Sebagai Penghasil Biosurfaktan ( Assay of Keratinolytic Bacterial Activity to Producing Biosurfactant ). *Jurnal Farmasi, Sains, dan Kesehatan*, 6(2), 75–80. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v6i2.12533>

- Rengga, W. D. P., Riyadi, D. H. S., Bintang, A., & Kuntoro. (2018). Kajian Produksi dan Proses Biosurfaktan Rhamnolipida dari Limbah Industri Minyak Sawit dan Turunannya Menggunakan *Pseudomonas Aeruginosa*. *Seminar Nasional SINERGI (Energi & Teknologi)*, 84–94.
- Ridwan Ansyori, M. (2018). Mengenal Enhanced Oil Recovery ( EOR ) Sebagai Solusi Meningkatkan Produksi Minyak. *Swara Patra*, 8(2), 16–22.
- Riwayati, I., & Kurniasari, L. (2011). Studi Hidrolisa Minyak Goreng Bekas Secara Enzimatis Aktivasi Gelombang Mikro. *Momentum*, 7(2), 45–50.
- Riyanto, C. L. R., Sumardi, Farisi, S., & Ekowati, C. N. (2021). Aktivitas Biosurfaktan *Serratia Marcescens* Strain MBC1 dalam Mengemulsikan Solar dengan Variasi pH dan Media Biosurfactant Activity of *Serratia Marcescens* strain MBC1 in Dissolving Diesel Fuel with pH and Media Variation. *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 8(3), 114–122.
- Sari, M., Kusharyoto, W., & Made Artika, I. (2014). Screening for Biosurfactant-Producing Yeast: Confirmation of Biosurfactant Production. *Biotechnology*, 13(3), 106–111. <https://doi.org/10.3923/biotech.2014.106.111>
- Sen, R., & Swaminathan, T. (2004). Response surface modeling and optimization to elucidate and analyze the effects of inoculum age and size on surfactin production. *Biochemical Engineering Journal*, 21, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2004.06.006>
- Siami, D. H., & Yono, N. H. (2020). Microbial Enhanced Oil Recovery ( MEOR ): Alternatif Peningkatan Produksi Migas di Indonesia. *Jurnal Nasional Pengelolaan Energi*, 2(2), 1–8.
- Silva, M. E. T., Jr, S. D., Oliveira, R. L., Banhos, E. F., Souza, A. Q. ., & Albuquerque, P. . (2019). Biosurfactant production of *Piper hispidum* endophytic fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 1–9. <https://doi.org/10.1111/jam.14398>

- Silva, N. R. A., Luna, M. A. C., Santiago, A. L. C. M. A., Franco, L. O., Silva, G. K. B., Souza, P. M. de, Okada, K., Albuquerque, C. D. C., Silva, C. A. A. da, & Takaki, G. M. C. (2014). Biosurfactant-and-Bioemulsifier Produced by a Promising *Cunninghamella echinulata* Isolated from Caatinga Soil in the Northeast of Brazil. *International Journal of Molecular Sciences*, *15*, 15377–15395. <https://doi.org/10.3390/ijms150915377>
- Sopianti, D. S., Herlina, & Saputra, H. T. (2017). Penetapan Kadar Asam Lemak Bebas pada Minyak Goreng. *Jurnal Katalisator Kopertis Wilayah X*, *2*(2), 100–105.
- Suarjana, I. G. K., Besung, I. N. K., Mahatmi, H., & PG, K. T. (2017). *Modul Isolasi dan Identifikasi Bakteri*. Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Udayana.
- Sumantha, A., Larroche, C., & Pandey, A. (2006). Microbiology and Industrial Biotechnology of Food-Grade Proteases : A Perspective. *Food Technology Biotechnology*, *44*(2), 211–220.
- Sumiardi, A. (2021). Karakterisasi Biokimia Biosurfaktan yang Dihasilkan Bakteri *Alteromonas Macleodii* Y 18228 Sebagai Agen Pendegradasi Senyawa Hidrokarbon. *JURNALIS*, *4*(1), 43–55.
- Usuman, I., & Fitriyaningsih. (2011). Penerapan Sistem Integrasi Elektronik dan Pengamatan Perlakuan Sifat Jamur Berdasarkan Suhu dan Kelembaban Pada Ruang Tumbuh Jamur likasi RFID untuk Sistem Kuping ( *Auricularia* Sp. ). *IJEIS*, *1*(2), 11–20.
- Van Dyke, M. I., Lee, H., & Trevors, J. T. (1991). Applications of Microbial Surfactants. *Biotechnology*, *9*, 241–252.
- Vigneshwaran, C., Sivasubramanian, V., Vasantharaj, K., Krishnanand, N., & Jerold, M. (2018). Potential of *Brevibacillus* sp. AVN 13 Isolated from Crude Oil Contaminated Soil for Biosurfactant Production and its Optimization Studies. *Biochemical Pharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.06.036>

- Wahyuni, D. T. (2013). *Laporan Praktikum Farmasi Fisik II Percobaan I Penentuan Tegangan Permukaan*.
- Wawan, M. (2017). *Pengelolaan Bahan Organik*. Universitas Riau.
- Wibisana, A. (2018). Isolasi dan Skrining Mikroba Penghasil Biosurfaktan dari Air Laut yang Tercemar Minyak. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia UNPAM*, 2(2), 11–18.
- Wuryanti. (2008). *Pengaruh Penambahan Biotin Pada Media Pertumbuhan Terhadap Produksi Sel Aspergillus niger*. 10(2).
- Yamin, A. (2012). *Ekstraksi Asbuton dengan Mikroba (Isolasi Mikroba Asbuton)* (M. Sjahdanulirwan & N. Suaryana (ed.); 1 ed.). Penerbit Informatika.
- Yovita, V. S. R. (2016). *Optimasi Parafin Cair sebagai Emolien dan Gliserol sebagai Humektan dalam Sediaan Krim Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) Serta Uji Aktivitas Antioksidan*. Universitas Sanata Dharma Yogyakarta.
- Yuanita, L., Wikandari, P. R., Poedjiastoeti, S., & Tjahyani, S. (2009). Penggunaan Natrium Tripolifosfat untuk Meningkatkan Masa Simpan Daging Ayam. *jurnal Agritech*, 29(2), 79–86.
- Yunasfi, Silaban, S. S., & Utomo, B. (2020). Aplikasi Fungi Aspergillus niger, Aspergillus sp. 1, Aspergillus sp. 2 Untuk Meningkatkan Pertumbuhan Rhizophora apiculata Di Kecamatan Pangkalan Susu kabupaten Langkat. *TALENTA Conference Series: Agricultura & Natural Resource*, 3(1), 110–118. <https://doi.org/10.32734/anr.v3i1.841>
- Zuhri, R., Agustien, A., & Rilda, Y. (2013). Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen Terhadap Produksi Protease Alkali dari Bacillus sp. M1.2.3. Termofilik. *Jurnal Biologika*, 2(1), 40–46.
- Zulkarnain, J. (2013). *pengaruh perbedaan komposisi tepung tapioka terhadap bakso lele*. Universitas Negeri Padang.