



PRODUKSI BIOSURFAKTAN RAMNOLIPID OLEH *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 DENGAN TEKNIK KULTIVASI UMPAN CURAH DAN SUMBER KARBON MINYAK SAWIT

Darti Nurani¹⁾ dan Sidik Marsudi²⁾

¹⁾Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Institut Teknologi Indonesia (ITI), Serpong, Tangerang Selatan

²⁾Program Studi Teknik Kimia, Institut Teknologi Indonesia (ITI), Serpong, Tangerang Selatan

dn_rani@yahoo.com , sidikmar@yahoo.com

Biosurfaktan ramnolipid telah dikenal mempunyai potensi aplikasi yang sangat luas. Namun, hambatan utama komersialisasi biosurfaktan ini adalah mahal biaya produksi. Produksi ramnolipid oleh *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 dengan teknik kultivasi umpan curah (*fed batch*), menggunakan minyak dari tanaman sebagai sumber karbon, diharapkan dapat menurunkan biaya produksi ramnolipid. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi operasi yang terbaik dalam memproduksi ramnolipid (biosurfaktan) dengan teknik kultivasi umpan curah, menggunakan sumber karbon minyak sawit. Percobaan produksi skala laboratorium (*bench scale*) telah dilakukan menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924. Inokulum bakteri dibiakkan dengan medium IFO 802 yang per liternya terdiri atas 10 gram polypepton, 2 gram yeast ekstrak, dan 1 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. Untuk media produksi digunakan medium modifikasi garam dasar (*modified basal salt medium*, MBSM) dengan komposisi per liternya sebagai berikut: 0,666 gram NH_4NO_3 ; 6,6852 gram K_2HPO_4 ; 4,1413 gram KH_2PO_4 ; 0,12 gram $MgSO_4$; 1 ml mikroelemen, ditambah sumber karbon minyak sawit dengan total penambahannya: 40 g/l, 80 g/l, dan 120 g/l. Teknik kultivasi umpan curah (*fed batch*) dilakukan dengan cara menambahkan sumber karbon secara impuls dan secara terus menerus (kontinyu) selama 72 jam kultivasi. Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK), pola faktorial $2 \times 3 \times 9$, dengan dua kali ulangan. Faktor A adalah teknik pengumpanan, terdiri atas dua taraf: a_1 : impuls dan a_2 : kontinyu. Faktor B adalah konsentrasi sumber karbon minyak sawit yang terdiri atas tiga taraf: b_1 : 40 g/l; b_2 : 80 g/l dan b_3 : 120 g/l. Faktor C adalah waktu kultivasi yang terdiri atas sembilan taraf: c_1 : 5 jam; c_2 : 20 jam; c_3 : 25 jam; c_4 : 30 jam; c_5 : 45 jam; c_6 : 50 jam; c_7 : 55 jam; c_8 : 68 jam dan c_9 : 72 jam. Analisis dilakukan pada jam ke-5, 20, 25, 30, 45, 50, 55, 68 dan jam ke-72, yang meliputi analisis berat kering sel, analisis perolehan ramnolipid dan analisis sisa sumber nitrogen. Penelitian menghasilkan perolehan ramnolipid tertinggi sebesar 8,5 g/l didapat dari penambahan minyak sawit dengan total penambahan sebesar 40 g/l selama 68 jam kultivasi dan teknik pengumpanannya dilakukan secara impuls.

Kata Kunci: produksi ramnolipid, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924, teknik kultivasi umpan curah

PENDAHULUAN

Ramnolipid merupakan biosurfaktan yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Senyawa ini mempunyai gugus hidrofilik dan gugus hidrofobik sehingga senyawa ini mempunyai sifat yang sangat luas. Selain itu, ramnolipid jauh lebih mudah terdegradasi di alam (ramah lingkungan) dibandingkan dengan surfaktan sintesis. Salah satu keunggulan biosurfaktan ramnolipid yaitu mampu menurunkan tegangan permukaan dua cairan yang tidak mampu campur dan mampu membentuk mikroemulsi antara dua material/bahan yang berbeda fasenya. Disamping itu, potensi pemanfaatan ramnolipid sangat luas antara lain: sebagai bahan emulsifier (Muthusamy dkk., 2008); pengendali hama tanaman pangan (Vasta dkk., 2010), bahan campuran kosmetik (Lourith dan Kanlavattanakul, 2009), dan digunakan untuk bioremediasi senyawa terhadap tanah dan air yang terkontaminasi senyawa hidrokarbon (Banat dkk., 2010; Nitschke dkk., 2011, Thavasi dkk, 2011a).

Pseudomonas aeruginosa adalah salah satu bakteri yang dapat menghasilkan produk ramnolipid. Strain *Pseudomonas aeruginosa* yang telah diteliti kemampuannya dalam menghasilkan ramnolipid antara lain: *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3755, *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 (Marsudi dkk., 2008; Hori dkk, 2002), dan *Pseudomonas aeruginosa* PAO 1 (Muller dkk., 2010). Selain *Pseudomonas aeruginosa*, bakteri yang dapat memproduksi ramnolipid adalah *Pseudomonas nitroreducens* dan *Thermos thermophilus* (Pantazaki dkk., 2010), dan *Pseudomonas chlororaphis* strain NRRL B-30761 (Gunther, 2007). Bakteri-bakteri tersebut telah diuji kemampuannya untuk memproduksi ramnolipid dengan berbagai sumber karbon. Selain itu *Pseudomonas aeruginosa* PAO 1 juga telah digunakan sebagai model produksi ramnolipid dengan teknik kultivasi curah (Muller dkk., 2010). Meskipun demikian, bakteri *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 mempunyai kemampuan dalam memproduksi ramnolipid dengan produktivitas tinggi dibandingkan dengan beberapa jenis *Pseudomonas* lainnya (Marsudi dkk., 2010; Hori dkk, 2002).

Minyak sawit merupakan trigliserida yang mengandung asam lemak dan gliserol. *Pseudomonas aeruginosa* mampu mengonsumsi sumber karbon ini secara langsung karena bakteri ini dapat memproduksi enzim lipase untuk menghidrolisa minyak sawit menghasilkan asam lemak penyusunnya dan gliserol (Marsudi dkk., 2008). Biosintesa ramnolipid dari minyak sawit dimulai dari aktivitas bakteri menghidrolisa minyak sawit. Asam lemak dan gliserol hasil hidrolisa ini kemudian masuk ke siklus *fatty acid β -oxidation* dan *fatty acid de novo*, selanjutnya terjadi metabolisme pembentukan ramnolipid.

Onwosi dan Odibo (2012) telah mempelajari efek sumber karbon dan sumber nitrogen terhadap produksi biosurfaktan ramnolipid dari *Pseudomonas nitroreducens* yang diisolasi dari tanah. Hasilnya menunjukkan bahwa glukosa merupakan sumber karbon yang terbaik dari beberapa sumber karbon yang telah dicoba. Konsentrasi maksimum ramnolipid yang dihasilkan yaitu 5,28 g/l. Pada efek sumber nitrogen, NaNO_3 merupakan sumber nitrogen yang terbaik dibandingkan urea dan yeast ekstrak. Konsentrasi maksimum ramnolipid yang dihasilkan yaitu 4,38 g/l. Selain itu, pengaruh pengaruh rasio sumber karbon (glukosa) terhadap nitrogen (NaNO_3) juga telah dipelajari. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rasio C/N (mol/mol) 22 merupakan rasio yang baik untuk memproduksi ramnolipid.

Perbandingan produksi ramnolipid dengan teknik kultivasi curah dan umpan curah telah dilakukan dengan glukosa sebagai sumber karbon. Kultivasi curah dilakukan pada *shaker* dengan kecepatan 250 rpm, suhu 37 °C, dan pH awal medium 6,8. Kultivasi umpan curah dilakukan dengan suhu yang sama dan nilai pH dijaga konstan dengan nilai 6,8. Ramnolipid yang dihasilkan dengan kultivasi curah dan

kultivasi umpan curah secara berurutan adalah 5,31 g/l dan 6,06 g/l. Pada kondisi ini terjadi peningkatan produksi ramnolipid sebesar 1,12 kali lebih tinggi pada kultivasi umpan curah (Chen dkk., 2007).

Beragam percobaan telah dilakukan untuk memproduksi ramnolipid dengan menggunakan sumber karbon seperti glukosa, gliserol, asam lemak, dan berbagai minyak dari tanaman seperti minyak kacang kedelai, minyak bunga matahari, minyak jagung dan minyak sawit (Pantazaki dkk., 2010; Makkar dkk., 2011; Rosa dkk., 2010). Minyak sawit juga telah digunakan untuk memproduksi ramnolipid dengan teknik kultivasi curah (*batch culture*) oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Pseudomonas alcaligenes* (Olivera dkk., 2008; Marsudi dkk., 2008). Namun masih sangat sedikit informasi terkait produksi ramnolipid dengan sumber karbon minyak sawit menggunakan teknik kultivasi umpan curah (*fed batch*). Produksi ramnolipid dengan teknik umpan curah lebih baik dibandingkan dengan teknik curah (Chen dkk., 2007). Selain itu, kultivasi umpan curah telah dikenal sebagai upaya yang efektif untuk mendapatkan produktivitas bioproduk dari mikroba termasuk ramnolipid dari bakteri (Chen dkk., 2007; Matsufuji, 1997; Lee dkk., 2004). Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan produksi ramnolipid dari minyak sawit sebagai sumber karbon dengan teknik kultivasi umpan curah.

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi minyak sawit sebagai sumber karbon dan waktu kultivasi yang optimum untuk memproduksi biosurfaktan ramnolipid oleh *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 dengan teknik kultivasi umpan curah. Penelitian ini diharapkan dapat mendukung komersialisasi produksi biosurfaktan ramnolipid dan mendukung program pemerintah untuk menciptakan produk-produk industri yang berwawasan lingkungan.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: medium IFO 802 yang per liternya terdiri atas 10 gram polypepton, 2 gram yeast ekstrak, dan 1 gram $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Untuk media produksi digunakan medium modifikasi garam dasar (*modified basal salt medium*, MBSM) dengan komposisi per liternya sebagai berikut: 0,666 gram $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; 6,6852 gram K_2HPO_4 ; 4,1413 gram KH_2PO_4 ; 0,12 gram MgSO_4 ; 1 ml mikroelemen. Komposisi mikroelemen per liter sebagai berikut: 2,80 gram $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 2,40 gram $\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 2,40 gram $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 1,70 $\text{CaCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 0,20 gram $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,30 gram $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dan 0,25 gram NaMoO_4 . Sebagai sumber karbon digunakan minyak sawit (Bimoli). Isolat *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924

(yang dibeli dari *Biology Resource Center, National Institute of Technology and Evaluation*, Japan. Pelarut metanol dan kloroform.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: autoklaf, oven, *laminar air flow*, *waterbath shaker*, corong pemisah, kertas saring, *magnetic stirrer*, lemari asam dan peralatan gelas lainnya.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui tahapan: aktivasi sel, persiapan starter dan produksi biosurfaktan ramnolipid dengan teknik kultivasi umpan curah.

Aktivasi sel *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 dan persiapan media padat serta media cair dari medium IFO 802 untuk *sub cultur*. Aktivasi sel serta persiapan media padat dan media air dilakukan berdasarkan petunjuk pengaktifan dan pembuatan media IFO 802 yang dikeluarkan oleh *Institute of Fermentation*, Osaka, Jepang. Persiapan ini diperlukan untuk melakukan aktivasi sel yang disimpan dalam ampul (telah disimpan dalam waktu lama). Untuk penggunaan rutin, sel disimpan dalam refrigerator pada media padat dengan suhu 4°C dan diaktifkan kembali menggunakan media cair IFO 802.

Biakan murni *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 (dalam ampul) diaktifkan terlebih dahulu dengan cara menginokulasikannya pada 10 ml media IFO 802 cair dan diinkubasi menggunakan *water bath shaker* pada putaran 120 rpm, suhu 30°C selama 18-20 jam. Kultur aktif selanjutnya ditumbuhkan pada media agar miring IFO 802 sebagai kultur stok dan kultur kerja.

Persiapan starter. Starter untuk produksi ramnolipid disiapkan dengan cara menumbuhkan 2% kultur aktif atau sebanyak 1 ml ke dalam 50 ml media IFO 802 cair dan diinkubasi menggunakan *waterbath shaker* pada putaran 120 rpm, suhu 30°C selama 20 jam.

Produksi biosurfaktan ramnolipid dengan teknik kultivasi umpan curah. Produksi ramnolipid ini dilakukan dalam flask 250 ml, dengan teknik kultivasi umpan curah (*fed batch*) menggunakan minyak sawit sebagai sumber karbon utama. Kondisi operasi untuk percobaan ini yaitu suhu di jaga pada suhu 28 ± 1 °C. Disamping itu, pH juga di jaga pada $pH = 7 \pm 0.2$ dengan penambahan NaOH atau HCl. Rasio C/N dari sumber karbon dan terhadap nitrogen adalah 22 (mol/mol).

Tahap ini diawali dengan menyiapkan 6 buah erlenmeyer (500 ml) yang berisi 250 ml media MBSM steril. Tiga erlenmeyer pertama ditambah sumber karbon minyak sawit, berturut-turut sebanyak 40, 80 dan 120 g/l untuk produksi ramnolipid dengan teknik pengumpanan secara impuls; tiga erlenmeyer kedua ditambah sumber karbon minyak sawit, berturut-turut sebanyak 40, 80 dan 120 g/l untuk produksi ramnolipid dengan teknik pengumpanan secara kontinyu. Selanjutnya ke dalam masing-masing

media dinokulasikan 2% starter atau sebanyak 5 ml starter. Kemudian tiga erlenmeyer pertama dengan tiga perlakuan konsentrasi sumber karbon yang berbeda diinkubasi menggunakan *water bath shaker* pada putaran 200 rpm, suhu 30°C selama 72 jam; pengumpanan secara impuls dilakukan dengan menambahkan sumber karbon setiap kali setelah pengambilan sampel (kecuali pada pengambilan sampel pada jam ke-72) dan jumlah karbon yang ditambahkan setelah diperhitungkan adalah berturut-turut untuk setiap variasi konsentrasi awal sumber karbon (40 g/l, 80 g/l dan 120 g/l) adalah 1,43; 2,86 dan 4,29 ml. Tiga erlenmeyer kedua dengan tiga perlakuan konsentrasi sumber karbon yang berbeda diinkubasi menggunakan *water bath shaker* pada putaran 200 rpm, suhu 30°C selama 72 jam; pengumpanan dilakukan dengan menambahkan sumber karbon secara kontinyu mulai jam ke-5 sampai dengan jam ke-68 fermentasi. Jumlah karbon yang ditambahkan setelah diperhitungkan berturut-turut untuk setiap variasi konsentrasi awal sumber karbon (40 g/l, 80 g/l dan 120 g/l) adalah sebanyak 10; 20 dan 30 ml, masing-masing dengan kecepatan 4 tetes, 8 tetes dan 12 tetes per jam. Percobaan dibuat dua ulangan. Analisis dilakukan pada jam ke-5, 20, 25, 30, 45, 50, 55, 68 dan jam ke-72, terhadap berat kering sel, perolehan ramnolipid dan sisa sumber nitrogen.

Rancangan percobaan. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) pola faktorial 2x3x9, dengan dua kali ulangan. Faktor A adalah teknik pengumpanan, terdiri atas dua taraf: a₁: impuls dan a₂: kontinyu. Faktor B adalah konsentrasi sumber karbon minyak sawit yang terdiri atas tiga taraf: b₁: 40 g/l; b₂: 80 g/l dan b₃: 120 g/l. Faktor C adalah waktu kultivasi yang terdiri atas sembilan taraf: c₁: 5 jam; c₂: 20 jam; c₃: 25 jam; c₄: 30 jam; c₅: 45 jam; c₆: 50 jam; c₇: 55 jam; c₈: 68 jam dan c₉: 72 jam.

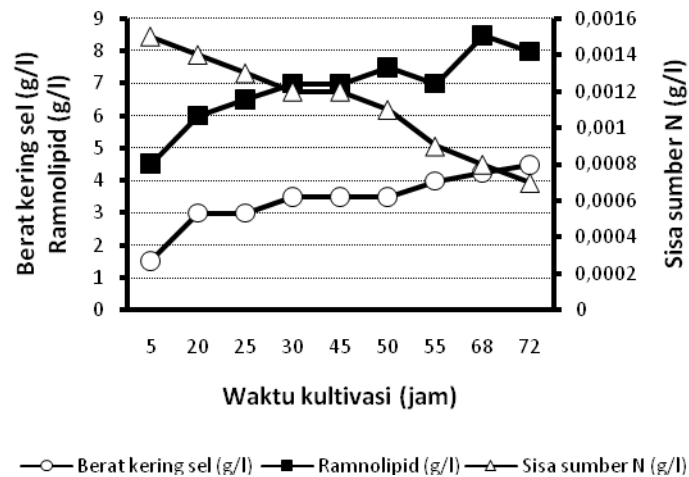
Analisis. Analisis yang dilakukan meliputi analisis berat kering sel dan perolehan (yield) ramnolipid dan sisa sumber nitrogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rekapitulasi hasil analisis rata-rata berat kering sel (g/l), perolehan ramnolipid (g/l) dan sisa konsumsi nitrogen pada produksi biosurfaktan ramnolipid dengan variasi teknik pengumpanan dan konsentrasi sumber karbon serta waktu kultivasi dapat dilihat pada Lampiran 1. Sementara itu, berdasarkan hasil analisis ragam perolehan ramnolipid selama kultivasi (Lampiran 2), diperoleh bahwa variasi teknik pengumpanan, konsentrasi sumber karbon dan lama fermentasi masing-masing berpengaruh pada perolehan ramnolipid (g/l) pada produksi ramnolipid oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan, interaksi perlakuan-perlakuan tersebut tidak mempengaruhi perolehan ramnolipid.

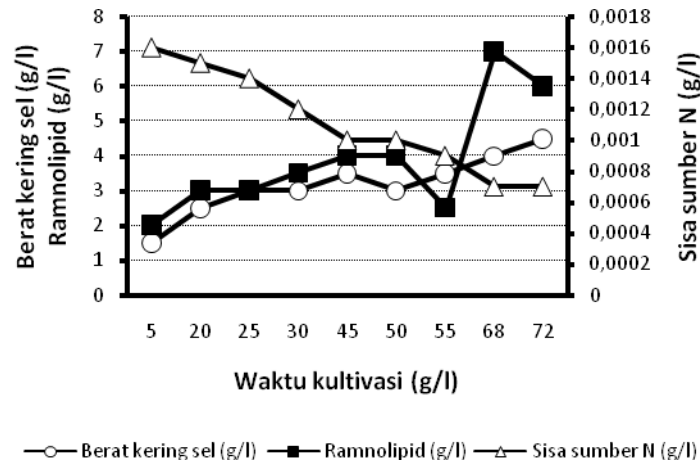
Pengaruh konsentrasi sumber karbon pada produksi ramnolipid dengan teknik pengumpanan secara impuls

Berdasarkan Gambar 1, 2 dan 3, pada teknik pengumpanan sumber karbon secara impuls, terlihat bahwa kenaikan konsentrasi sumber karbon dari minyak sawit, sampai dengan 120 g/l yang ditambahkan pada media produksi, tidak berdampak pada kenaikan pertumbuhan sel bakteri. Yang terjadi justru sebaliknya, kenaikan konsentrasi sumber karbon menyebabkan pertumbuhan sel bakteri cenderung lebih lambat.

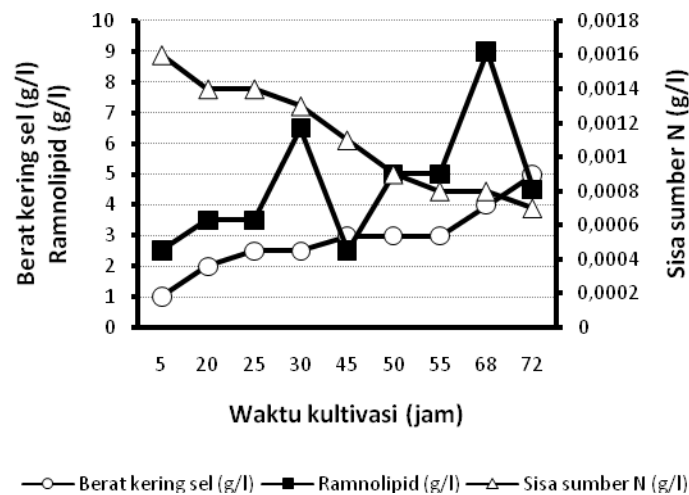


Gambar 1. Grafik pertumbuhan sel, perolehan ramnolipid dan sisa sumber nitrogen selama produksi ramnolipid dengan pengumpanan sumber karbon 40 g/l secara impuls

Demikian pula pada hasil ramnolipid yang diperoleh, kenaikan konsentrasi sumber karbon dari minyak sawit sampai dengan 120 g/l yang ditambahkan pada media produksi, tidak berdampak pada kenaikan produksi ramnolipid. Yang terjadi justru sebaliknya, kenaikan konsentrasi sumber karbon menyebabkan kecepatan produksi ramnolipid cenderung lebih lambat. Walaupun pada penambahan minyak sawit sebanyak 120 g/l, diperoleh hasil ramnolipid tertinggi sebesar 9 g/l pada kultivasi selama 68 jam, namun kenaikan ini tidak signifikan dibandingkan dengan perolehan ramnolipid pada penambahan minyak sawit sebesar 40 g/l selama kultivasi 68 jam, yaitu sebesar 8,5 g/l.



Gambar 2. Grafik pertumbuhan sel, perolehan rhamnolipid dan sisa sumber nitrogen selama produksi rhamnolipid dengan pengumpanan sumber karbon 80 g/l secara impuls

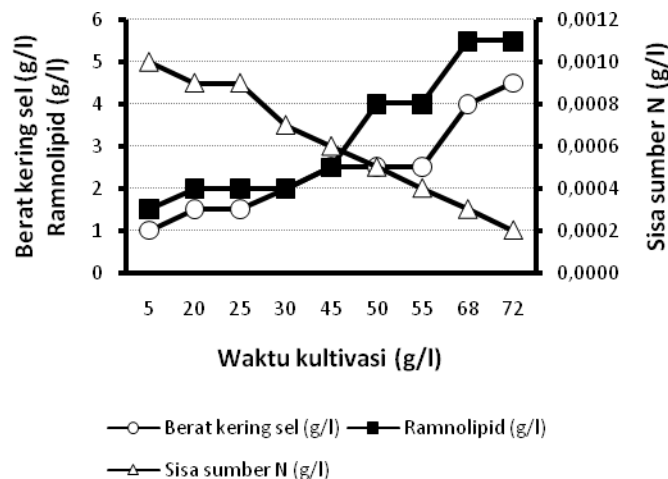


Gambar 3. Grafik pertumbuhan sel, perolehan rhamnolipid dan sisa sumber nitrogen selama produksi rhamnolipid dengan pengumpanan sumber karbon 120 g/l secara impuls

Hal ini didukung dengan perolehan data konsumsi nitrogen oleh *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 yang cenderung lebih tinggi pada produksi rhamnolipid pada penambahan minyak sawit sebesar 40 g/l dibandingkan konsumsi nitrogen dari perlakuan penambahan minyak sawit pada konsentrasi yang lebih tinggi (80 dan 120 g/l). Hal ini dapat terlihat pada Gambar 1, 2 dan 3, bahwa sisa nitrogen yang terdeteksi pada perlakuan penambahan minyak sawit sebesar 40 g/l cenderung lebih sedikit dibandingkan sisa nitrogen dari perlakuan penambahan minyak sawit pada konsentrasi yang lebih tinggi (80 dan 120 g/l).

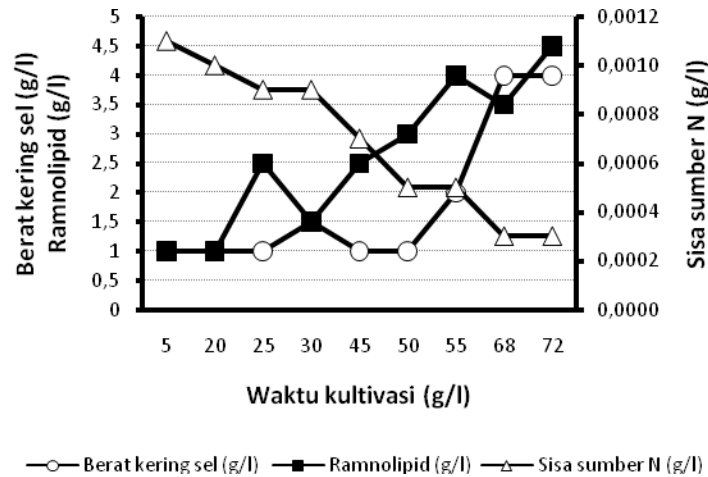
Pengaruh konsentrasi sumber karbon pada produksi ramnolipid dengan teknik pengumpanan secara kontinu

Pada teknik pengumpanan sumber karbon secara kontinu, seperti halnya pada teknik pengumpanan secara impuls, diperoleh hasil bahwa semakin tingginya konsentrasi minyak sawit yang ditambahkan pada media produksi, hal ini tidak mampu meningkatkan pertumbuhan sel bakteri (Gambar 4, 5 dan 6). Demikian pula pada hasil ramnolipid yang diperoleh, kecepatan pembentukannya tidak mengalami peningkatan seiring dengan penambahan konsentrasi minyak sawit. Walaupun pada penambahan minyak sawit sebesar 120 g/l, terjadi peningkatan kecepatan produksi ramnolipid yang cukup tajam pada jam ke-20 sampai jam ke-25 kultivasi, namun kenaikan tersebut tidak berlanjut sampai akhir kultivasi 72 jam.

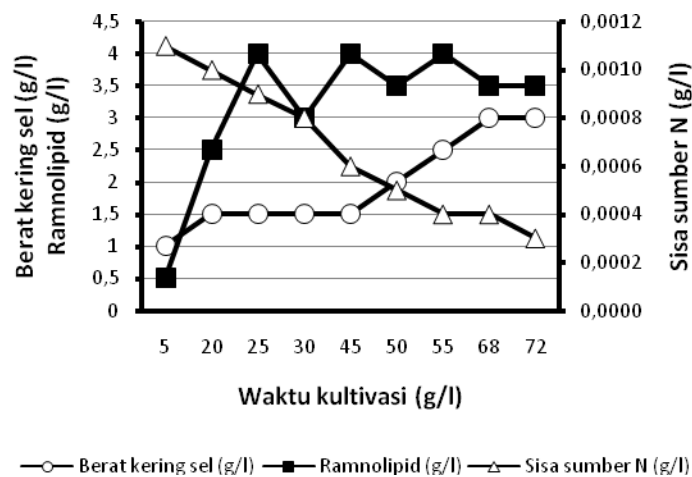


Gambar 4. Grafik pertumbuhan sel, perolehan ramnolipid dan sisa sumber nitrogen selama produksi ramnolipid dengan pengumpanan sumber karbon 40 g/l secara kontinu

Hal ini didukung dengan perolehan data konsumsi nitrogen oleh *Pseudomonas aeruginosa* IFO 3924 yang cenderung lebih tinggi pada produksi ramnolipid pada penambahan minyak sawit sebesar 40 g/l dibandingkan konsumsi nitrogen dari perlakuan penambahan minyak sawit pada konsentrasi yang lebih tinggi (80 dan 120 g/l). Hal ini dapat terlihat pada Gambar 4, 5 dan 6, bahwa sisa nitrogen yang terdeteksi pada perlakuan penambahan minyak sawit sebesar 40 g/l cenderung lebih sedikit dibandingkan sisa nitrogen dari perlakuan penambahan minyak sawit pada konsentrasi yang lebih tinggi (80 dan 120 g/l).



Gambar 5. Grafik pertumbuhan sel, perolehan rhamnolipid dan sisa sumber nitrogen selama produksi rhamnolipid dengan pengumpanan sumber karbon 80 g/l secara kontinu



Gambar 6. Grafik pertumbuhan sel, perolehan rhamnolipid dan sisa sumber nitrogen selama produksi rhamnolipid dengan pengumpanan sumber karbon 120 g/l secara kontinu

Pengaruh teknik pengumpanan sumber karbon pada produksi rhamnolipid dengan teknik umpan curah

Apabila teknik pengumpanan sumber karbon pada produksi rhamnolipid secara umpan curah dibandingkan, berdasarkan hasil penelitian ini diperoleh bahwa teknik pengumpanan sumber karbon secara impuls cenderung dapat meningkatkan perolehan rhamnolipid. Terlihat dari hasil terbaik perolehan rhamnolipid pada pengumpanan sumber karbon secara impuls, yaitu sebesar 8,5-9,0 g/l; sedangkan hasil terbaik perolehan rhamnolipid pada pengumpanan sumber karbon secara kontinu, hanya sebesar 5,5 g/l.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian produksi ramnolipid teknik kultivasi umpan curah, diperoleh hasil bahwa perolehan ramnolipid tertinggi sebesar 8,5 g/l didapat dari penambahan minyak sawit dengan total penambahan sebesar 40 g/l selama 68 jam kultivasi dan teknik pengumpulannya dilakukan secara impuls.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kepada Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia, Kopertis Wilayah III Jakarta dan Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Dikti, Departemen Pendidikan Nasional Republik Indonesia atas kesempatan yang telah diberikan kepada kami untuk melaksanakan penelitian Hibah Bersaing tahun 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Banat I. M., Franzetti A., Gandolfi I., Bestetti G., Martinotti M.G., Fracchia L., Smyth T. J. dan Marchant R. 2010. Microbial biosurfactants production, applications and future potential, *Applied Microbiology Biotechnology*. 87: 427–444.
- Chen S.Y., Wei H.Y., Chang J.S. 2007. Repeated pH-stat fed-batch fermentation for rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* S2. *Applied Microbiology Biotechnology*. 76 : 67–74.
- Costa S.G.V.A.O., Nitschk, M., ois Lépine F., Déziel E., dan Contiero, J. 2010. Structure, properties and applications of rhamnolipids produced by *Pseudomonas aeruginosa* L2-1 from cassava wastewater, *Process Biochemistry*. 45:1511–1516.
- Hori K., Ichinohe R., Unno H., Marsudi, S. 2011. Simultaneous syntheses of polyhydroxyalkanoates and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* IFO3924 at various temperatures and from various fatty acids, *Biochemical Engineering Journal*. 53:196–202.
- Koch K.A., Kappeli O., Ficher A. dan Reiser J. 1991. Hydrocarbon assimilation and biosurfactant production in *Pseudomonas aeruginosa* mutants, *Journal of Bacteriology*. 173:4212–4219.
- Lee K.M., Hwang S.H., Ha S.D., Jang J.H., Lim D.J., dan Kong J.Y. 2004. Rhamnolipid production in batch and fed-batch fermentation using *Pseudomonas aeruginosa* BYK-2 KCTC 18012P. *Biotechnology Bioprocess Engineering*. 9:267–273.
- Lourith N. dan Kanlayavattanaku M. 2009. Natural surfactants used in cosmetics: glycolipids, *International Journal of Cosmetic Science*. 31:255–261.
- Maier R.M., dan Soberon-Chavez G. 2000. *Pseudomonas aeruginosa*: biosynthesis and potential applications, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 54:625-633.
- Marsudi, S., Hori, K., Tanji, Y., and Unno, H. 2008. Palm oil utilization for the simultaneous production of polyhydroxyalkanoates (PHAs) and rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa*, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 78:955-961.
- Makkar R.S., Cameotra S.S., dan Banat I.M. 2011. Advances in utilization of renewable substrates for biosurfactant production, *AMB Express*. 1:1-19.

- Matsufuji M., Nakata K., dan Yoshimoto A. 1997. High production of rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* growing on ethanol. *Biotechnology Letter*. 19:1213–1215.
- Muthusamy K., Gopalakrishnan S., Ravi T.K., dan Sivachidambaram P. 2008. Biosurfactants: Properties, commercial production and application, *Current Science*. 94:736-747.
- Nitschkea M., Costa S. G.V.A.O., Contiero J. 2011. Rhamnolipids and PHAs: Recent reports on *Pseudomonas*-derived molecules of increasing industrial interest, *Process Biochemistry*. 46:621–630.
- Oliveira F.J.S., Vazquez L., de Campos N.P., dan F.P. de Franc, F.D. 2009. Production of rhamnolipids by a *Pseudomonas alcaligenes* strain, *Process Biochemistry*. 44: 383–389.
- Onwosi C.O dan Odibo F.J.C. 2012. Effects of carbon and nitrogen sources on rhamnolipid biosurfactant production by *Pseudomonas nitroreducens* isolated from soil, *World Journal Microbiology and Biotechnology*, 28:937–942.
- Pantazaki A. A. Dimopoulou M. I., Simou O.M., Pritsa, A.A. 2010. Sunflower seed oil and oleic acid utilization for the production of rhamnolipids by *Thermus thermophilus* HB8, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 88:939–951.
- Rosa C.F.C., Michelon M., Burkert J.F.M., Kalil S.J., and Burkert C.A.F. 2010. Production of a rhamnolipid-type biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* LBM10 grown on glycerol, *African Journal of Biotechnology*. 9 : 9012-9017.
- Thavasi R., Jayalakshmi S., dan Banat I. M. 2011a. Application of biosurfactant produced from peanut oil cake by *Lactobacillus delbrueckii* in biodegradation of crude oil, *Bioresource Technology*. 102:3366–3372.
- Thavasi R., Nambaru V.R.M.S., Jayalakshmi S., Balasubramanian T., Banat I.M. 2011b. Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* from Renewable Resources, *Indian Journal of Microbiolgy*. 51:30–36.
- Vatsa P., Sanchez L., Clement C., Baillieul F., and Dorey S. 2010. Rhamnolipid Biosurfactants as New Players in Animal and Plant Defense against Microbes, *International Journal of Molecular Science*. 11:5095-5108.

Lampiran 1. Rekapitulasi hasil analisis rata-rata berat kering sel (g/l), perolehan ramnolipid (g/l) dan sisa sumber nitrogen (g/l) pada produksi biosurfaktan ramnolipid dengan variasi teknik pengumpanan dan konsentrasi sumber karbon serta waktu kultivasi

Perlakuan		Teknik pengumpanan sumber karbon					
		impuls			kontinyu		
Konsentrasi sumber C (g/l)	Waktu kultivasi (jam)	Berat kering sel (g/l)	Perolehan ramnolipid (g/l)	Sisa sumber N (g/l)	Berat kering sel (g/l)	Perolehan ramnolipid (g/l)	Sisa sumber N (g/l)
40	5	1,50	4,50	0,0015	1,00	1,50	0,0010
	20	4,00	6,00	0,0014	1,50	2,00	0,0009
	25	3,00	6,50	0,0013	1,50	2,00	0,0009
	30	3,50	7,00	0,0012	2,00	2,00	0,0007
	45	3,50	7,00	0,0012	2,50	2,50	0,0006
	50	3,50	7,50	0,0011	2,50	4,00	0,0005
	55	4,00	7,00	0,0009	2,50	4,00	0,0004
	68	4,25	8,50	0,0008	4,00	5,50	0,0003
	72	4,50	8,00	0,0007	4,50	5,50	0,0002
80	5	1,50	2,00	0,0016	1,00	1,00	0,0011
	20	2,50	3,00	0,0015	1,00	1,00	0,0010
	25	3,00	3,00	0,0014	1,00	2,50	0,0009
	30	3,00	3,50	0,0012	1,50	1,50	0,0009
	45	3,50	4,00	0,0010	1,00	2,50	0,0007
	50	3,00	4,00	0,0010	1,00	3,00	0,0005
	55	3,50	2,50	0,0009	2,00	4,00	0,0005
	68	4,00	7,00	0,0007	4,00	3,50	0,0003
	72	4,50	6,00	0,0007	4,00	4,50	0,0003
120	5	1,00	2,50	0,0016	1,00	0,50	0,0011
	20	2,00	3,50	0,0014	1,50	2,50	0,0010
	25	2,50	5,50	0,0004	1,50	4,00	0,0009
	30	2,50	6,50	0,0013	1,50	3,00	0,0008
	45	3,00	2,50	0,0011	1,50	4,00	0,0006
	50	3,00	5,00	0,0009	2,00	3,50	0,0005
	55	3,00	5,00	0,0008	2,50	4,00	0,0004
	68	4,00	9,00	0,0008	3,00	3,50	0,0004
	72	5,00	4,50	0,0007	3,00	3,50	0,0003

Lampiran 2. Sidik ragam perolehan ramnolipid pada produksi menggunakan teknik umpan curah

Sumber keragaman	db	Jumlah kuadrat	Kuadrat tengah	F hitung	F tabel	
					0,05	0,01
Ulangan	1	88,48	88,48	17,73**	4,00	7,08
Perlakuan	53	437,67				
Teknik pengumpanan (A)	1	133,37	133,37	26,73**	4,00	7,08
Konsentrasi sumber C (B)	2	59,06	29,53	5,92**	3,15	4,98
Waktu kultivasi (C)	8	142,34	17,79	3,57**	2,10	2,82
Interaksi AxB	2	29,02	14,51	2,91	3,15	4,98
Interaksi AxC	8	27,96	3,50	0,70	2,10	2,82
Interaksi BxC	16	23,80	1,49	0,30	1,84	2,35
Interaksi AxBxC	16	22,12	1,38	0,28	1,84	2,35
Galat	53	264,52	4,99			
Total	107	790,67				

**perlakuan berpengaruh sangat nyata