

Kajian Produksi Dan Proses Biosurfaktan Rhamnolipida Dari Limbah Industri Minyak Sawit Dan Turunannya Menggunakan *Pseudomonas Aeruginosa*

Wara Dyah Pita Rengga

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang, e-mail: wdpitar@mail.unnes.ac.id

Dody Herdian Saputra Riyadi

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang, e-mail: dodyherdiansaputra@gmail.com

Ade Bintang

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang, e-mail: adebintang092@gmail.com

Kuntoro

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Semarang, e-mail: torokabe02@gmail.com

Abstrak

*Biosurfaktan adalah suatu senyawa yang berguna untuk mengurangi tegangan permukaan cairan dihasilkan oleh mikroorganisme. Biosurfaktan ini memiliki sifat biodegradable yang ramah lingkungan dan tidak beracun. Limbah pengolahan minyak sawit berupa air buangan yang berasal dari kondensat rebusan, air hidrosiklon, dan lumpur separator yang memiliki substansi organik yang berharga seperti senyawa gula, karbohidrat, asam amino, asam organik, dan sisa lemak yang menyebabkan mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang. Review ini memuat informasi produksi biosurfaktan menggunakan media limbah pengolahan minyak sawit dan turunannya dengan menggunakan *Pseudomonas aeruginosa* untuk mendapatkan rhamnolipida yield tinggi. Kondisi fermentasi optimum untuk memproduksi biosurfaktan rhamnolipida adalah pH 6,8, suhu 37°C, agitasi 200 rpm, dan aerasi 70% atau 2L/menit. Aplikasi biosurfaktan rhamnolipida adalah bioremediasi yang mempunyai keunggulan meningkatkan kemampuan mengeluarkan minyak bumi dari tanah/laut sehingga pengambilan minyak lebih optimum.*

Kata Kunci: biosurfaktan, limbah industri minyak sawit, Rhamnolipid, *Pseudomonas aeruginosa*

Abstract

*Biosurfactant is a useful compound to reduce the surface tension of the liquid produced by microorganisms. Properties of biosurfactants are biodegradable, environmentally friendly, and non-toxic. Palm oil mill effluent is formed of waste water from condensate stew, hydrocyclone water, and sludge separator which has a valuable organic substance such as sugars, carbohydrates, amino acids, organic acids, and the rest of the fat is causing microorganisms can grow and thrive. This review contains information biosurfactant production using media processing palm oil and its derivatives by using *Pseudomonas aeruginosa* to obtain a high yield rhamnolipida. The optimum fermentation conditions to produce biosurfactant rhamnolipida is pH 6.8, 37 ° C, agitation 200 rpm and aeration of 70% or 2L / min. Rhamnolipida biosurfactant application is bioremediation which has the advantages of improving the ability to remove crude oil/oil from the ground / marine so that capture more.*

Keywords: biosurfactant, palm oil mill effluent, rhamnolipide, *Pseudomonas aeruginosa*

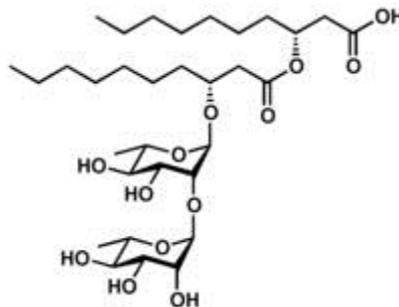
PENDAHULUAN

Surfaktan merupakan agen permukaan aktif yang berguna karena sifat tegangan permukaan permukaan cairan, tegangan antarmuka dua cairan, atau antara padat dan cair. Disebabkan oleh sifat tegangan aktifnya, surfaktan memiliki beberapa potensi aplikasi industri dan lingkungan (Maier dan Sobero´n-Cha´vez, 2000). Pemanfaatannya dalam dunia industri yaitu sebagai zat pengemulsi, *weiting agent*, dan detergen (Saharan dkk., 2011). Surfaktan sintesis banyak menimbulkan masalah lingkungan. Sehubungan dengan permasalahan tersebut, banyak dilakukan penelitian untuk mengalihkan surfaktan berbahan sintesis dengan berbahan sumber daya alam terbarukan dengan memproduksi biosurfaktan

Semua surfaktan termasuk biosurfaktan adalah kelompok struktur molekul beragam mempunyai 2 sifat yaitu hidrofob dan hidrofil. Bagian hidrofob (tidak suka air) mengandung molekul rantai panjang jenuh atau tidak jenuh dari asam lemak hidroksil, sedangkan hidrofil (suka air) seperti karbohidrat, asam amino atau peptida, anion dan kation polisakarida. Sifat biosurfaktan tersebut dapat diaplikasikan di lingkungan seperti

bioremediasi minyak dari tanah, pengambilan minyak mentah dan aplikasi potensial yang lainnya dari biosurfaktan berhubungan dengan makanan, kosmetik, industri perawatan, kesehatan dan pembersih bahan kimia beracun yang berasal dari industri dan pertanian. Rhamnolipida adalah salah satu dari surfaktan yang efektif ketika diaplikasikan untuk mengurangi senyawa hidrofobik dari tanah yang terkontaminasi (Rahman dkk, 2006). Biosurfaktan ini mempunyai kemampuan menurunkan tegangan permukaan sehingga dapat digunakan sebagai bioremediasi untuk peningkatan kemampuan pengambilan minyak bumi/minyak dari tanah atau lepas pantai.

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk menghasilkan biosurfaktan dari gula, minyak, dan limbah. Karbohidrat dan minyak nabati paling banyak digunakan substrat untuk penelitian tentang produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* (Raza dkk, 2007). Rhamnolipida adalah jenis glikolipida yang diproduksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* sebagai surfaktan bakteri. Struktur rhamnolipida adalah kelompok kepala glikosil, dalam hal ini bagian rhamnosa, dan 3- (hydroxyalkanoyloxy) asam alkanooat kelompok ekor asam lemak yang ditunjukkan pada Gambar 1. Rhamnolipida (di) terbentuk melalui kondensasi 2 mol rhamnosa (sakarida) dan grup asetal yang menghubungkan dengan grup hidrofobik, sedangkan bagian lipida dari molekul mengandung ester dan karboksil. Rhamnolipida yang diproduksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* adalah salah satu surfaktan yang sangat efektif jika diaplikasikan untuk mengambil senyawa hidrofobik dari tanah (Rahman dkk, 2006).



Gambar 1. Struktur Biosurfaktan Rhamnolipida

Saat ini perkembangan penggunaan biosurfaktan lebih banyak diminati dibandingkan surfaktan sintesis karena mempunyai beberapa kelebihan, seperti sifatnya yang ramah lingkungan yaitu *biodegradable* (dapat terdegradasi secara alami) dan tidak beracun. Kelemahan pada biosurfaktan ini, yaitu biaya investasi yang tinggi dan produksi biosurfaktan pada skala industri belum dapat diterapkan, disisi lain secara ekonomi diinginkan produksi biosurfaktan yang efektif. Adapun pendekatan yang dilakukan untuk menekan biaya produksi adalah menggunakan bahan alam terbarukan dari sumber substat alternatif yang tidak mahal dari industri yang potensial yaitu limbah industri dari minyak sawit dan turunannya. Pemilihan tersebut didasarkan bahwa pabrik kelapa sawit di Indonesia memproduksi *Crude Palm Oil* sekitar 23 juta ton (46% dari total produksi CPO di dunia. Pabrik Kelapa Sawit juga menghasilkan limbah. Limbah yang keluar dari pabrik berbentuk padatan, gas, dan cair. Limbah padat meliputi tandan kosong sekitar 23%, serat (sekitar 13,5%) dan cangkang (sekitar 5,5%). Limbah padat dapat dimanfaatkan sebagai bahan bakar, pupuk, pakan ternak. Limbah cair yang lebih dikenal dengan *palm oil mill effluent* (POME) Limbah cair POME memiliki sifat berminyak dan tidak beracun. POME berupa air buangan yang berasal dari kondensat rebusan, air hidrosiklon, dan lumpur separator. Limbah POME adalah 0,6-1 m³/ton tandan sawit segar. Limbah tersebut masih dapat bermanfaat dan berguna sebagai media substrat karena kandungan bahan organik dan nitrogennya. Meskipun demikian, limbah cair yang dibuang di kolam terbuka dapat melepaskan sejumlah gas metana dan gas CO₂ yang menyebabkan emisi gas rumah kaca. Pemanfaatan POME sebagai media fermentasi, pembuatan pupuk, pakan ternak dan sumber energi (Mandaki dan Cheng, 2013). Produk yang dihasilkan oleh POME sebagai media fermentasi adalah antibiotik, insektisida, solven aseton butane etanol, polihidroksialakanoat, asam organik dan enzyme (Wu dkk, 2007). POME menjadi antioksidan dan flavanoid (Wattanapenpaiboon dan Wahlqvist, 2003) dan produk hidrogen dengan proses aerobik sudah dipelajari (Vijayaraghavan dan Ahmad, 2006). Penggunaan POME sebagai media fermentasi sangat menguntungkan karena POME masih mengandung konsentrasi yang tinggi dari karbohidrat, protein dan senyawa nitrogen, lipida, dan mineral (Yahaya dkk, 2013). Oleh karena itu perlu adanya kajian yang mendukung POME sebagai media fermentasi untuk menghasilkan biosurfaktan.

Oleh karena itu pemanfaatan limbah cair pengolahan minyak sawit sangat potensial untuk disintesis menjadi biosurfaktan karena kandungan asam lemak, gula, dan protein. *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang membantu untuk menghasilkan biosurfaktan rhamnolipida. Biosurfaktan ini memiliki beberapa aplikasi bioteknologi yang potensial, dimana sintesis surfaktan ini dikatalisasi oleh rhamnosyltransferase 1, terdiri dari protein RhlA dan RhlB. RhlA berperan tidak hanya dalam sintesis surfaktan, tetapi juga terdapat produksi samping polyhydroxyalkanoates, polimer yang dapat digunakan untuk sintesis plastik *biodegradable* (Sobero'n-Cha'vez dkk, 2005).

Review jurnal ini bertujuan untuk menganalisis kondisi produksi dan proses biosurfaktan dari limbah industri pengolahan minyak sawit dan turunannya. Tujuan dari penelitian ini yaitu memperoleh kondisi operasi yang optimum pada proses fermentasi untuk memperoleh nilai konsentrasi dan *yield* biosurfaktan rhamnolipida yang tinggi dari bakteri *Pseudomonas aureginosa*.

METODE

Kecanggihan alat yang digunakan sedangkan spesifikasi bahan menggambarkan macam bahan yang digunakan. Pada kajian teori ini diteliti faktor-faktor yang mempengaruhi produksi dan proses fermentasi untuk mendapatkan biosurfaktan sehingga didapatkan pendekatan produksi biosurfaktan. Bahan utama yang dipilih dalam penelitian ini adalah limbah industri pengolahan minyak sawit, terutama pada limbah cair yang disebut POME. Pendekatan produksi dan proses menggunakan bahan utama limbah cair tersebut ditinjau dari kandungan limbah industri minyak sawit, kondisi reaksi, komposisi kultur media, dan kemampuan bioremediasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Limbah industri minyak sawit merupakan industri minyak untuk makanan yang sama dengan beberapa minyak nabati seperti minyak bunga matahari, minyak kedelai, dan minyak sawit. Kandungan minyak dalam tanaman hampir mirip, yaitu kandungan trigliserida dan asam lemak sehingga beberapa penelitian yang mengacu pada minyak nabati dapat diadopsi untuk mendapatkan proses memproduksi biosurfaktan. Minyak nabati dapat digunakan untuk memproduksi biosurfaktan karena kandungan asam lemak bebas mempunyai potensi untuk menginduksi pertumbuhan dan memacu metabolisme mikroorganisme untuk berproduksi. Didukung oleh penelitian Rahman dkk (2002), bahwa biosurfaktan disintesis sebagian besar berasal dari minyak dan dikarakterisasi dapat mengurangi tegangan permukaan, kritis konsentrasi misel dan ketegangan antarmuka di kedua larutan air dan campuran hidrokarbon.

Industri turunan minyak sawit, seperti limbah minyak pada industri sabun juga mengandung substrat yang sesuai untuk produksi biosurfaktan melalui fermentasi mikroorganisme (Benincasa, 2002). *Pseudomonas aeruginosa* diisolasi dari tanah yang terkontaminasi yang diambil dari danau yang sudah diberi limbah residu minyak kedelai untuk menghasilkan biosurfaktan dalam tangki reaktor berpengaduk (Lima De, dkk, 2009). Minyak bunga matahari mengandung asam oleat yang sangat berpotensi untuk memproduksi rhamnolipida (Anastasia dkk, 2010) Minyak sawit juga dapat digunakan untuk memproduksi polihidroksialkanoate (sintesis plastik *biodegradable*) dan rhamnolipida dengan memanfaatkan *Pseudomonas aeruginosa* (Sobero Cha'vez dkk, 2005). Produksi rhamnolipids dari *rapeseed oil* with *Pseudomonas sp.* sudah dilaporkan oleh Wegerer dkk (2008). Limbah minyak sayur digunakan sebagai substrat seperti limbah minyak lainnya yang sangat mudah dan tersedia dalam jumlah yang dominan. Penelitian dengan menggunakan bervariasi jenis minyak nabati telah dilakukan seperti minyak jarak, minyak jarak kastor, dan minyak jojoba. Jenis minyak tersebut dikenal mempunyai bau yang tidak sesuai untuk dikonsumsi manusia karena baunya yang tidak enak, berwarna, dan beracun. Minyak biji bunga matahari langsung dihidrolisis oleh sekresi lipase dari mikroba dan menjadi sumber karbon yang lebih disukai untuk produksi rhamnolipida. Pada limbah minyak goreng (dari minyak olive dan biji bunga matahari) dengan perbandingan (50:50; v/v), memproduksi sebanyak 8,1 g/L dari rhamnolipida (Zhang dkk, 2009). Penggabungan minyak yang murah dan limbah minyak yang digunakan sebagai media berfungsi untuk mereduksi secara keseluruhan biaya produksi biosurfaktan.

Limbah POME dan Industri Sabun

Proses pengolahan minyak sawit menghasilkan sejumlah besar limbah cair 55-67%. POME memiliki kandungan BOD sebesar 230 mg/L dan COD sekitar 700 mg/L sehingga tidak dapat dibuang langsung ke

lingkungan (Satriadi dkk, 2011). POME berwarna cairan coklat tua dan mempunyai bau asam yang kuat yang dapat mengurangi kadar oksigen dalam air, sehingga berbahaya bagi ekosistem perairan, bahkan dapat menghilangkan keanekaragaman hayati di dalamnya. Limbah cair keluar dari pengolahan minyak terdiri dari substansi yang beracun, sebagai contoh adalah polifenol (Hamman dkk, 1999) yang menjadikannya tidak dapat dikonsumsi oleh manusia sebagai bahan baku atau dalam proses, dan sulit pengolahannya sehingga menyebabkan masalah pada lingkungan. Namun demikian limbah tersebut masih memiliki substansi organik yang berharga seperti senyawa gula, karbohidrat, nitrogen, asam organik, dan sisa lemak dan senyawa polifenol yang menyebabkan mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang. Nutrisi yang ada di dalam POME sangat lengkap karena terdapat karbohidrat, lemak dan protein. Selama ini penanganan limbah cair minyak dilakukan dengan mengolahnya menjadi produk yang bermutu diantaranya dengan menggunakan jamur menjadi produk enzim (Crognale dkk, 2006) yang bernilai tinggi. Limbah minyak dapat diolah menjadi metana dengan mengolah limbah minyak dengan cara anaerobik. Ragi juga dapat digunakan untuk mendegradasi senyawa fenolik dalam limbah cair menggunakan *Yarrowia lipolytica* untuk mengolah limbah cair (Papanikolaou dkk, 2008) menjadi asam sitrat. Industri sabun menggunakan bahan baku utama dalam jumlah yang banyak yaitu produk samping dari proses pengolahan minyak biji-bijian dimana heksana dan senyawa kimia lainnya digunakan untuk mengekstraksi atau memurnikan minyak biji-bijian (sektor pangan). Pelarut yang terpakai (m mengandung sebagian kecil minyak) digunakan sebagai sumber karbon oleh *Pseudomonas. aeruginosa* untuk memproduksi biosurfaktan rhamnolipida melalui proses fermentasi sistem tumpak di dalam media garam mineral (Benincasa, 2002) dengan produksi konsentrasi rhamnolipida maksimum 15,9 g/L.

Kondisi Proses Fermentasi Rhamnolipida

Proses peroduksi biosurfaktan rhamnolipida dengan proses fermentasi sangat penting untuk dikembangkan terutama dengan menggunakan produk limbah industri. Diperlukan proses optimalisasi proses produksi sehingga faktor lingkungan fermentasi sangat penting dalam hasil dan karakteristik biosurfaktan yang dihasilkan. Produksi surfaktan dalam jumlah besar perlu mengoptimalkan kondisi proses karena produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh variabel seperti pH, suhu, aerasi, dan kecepatan agitasi (Raza dkk., 2007).

Produksi Rhamnolipida berlangsung pada kondisi operasi yang telah ditentukan salah satunya yaitu pH. Nilai pH memberikan pengaruh yang signifikan terhadap produksi Rhamnolipida oleh bakteri *P. aeruginosa*. Kontrol pH diperlukan untuk memberikan hasil rhamnolipida yang efisien dalam proses fermentasi. Chen dkk (2007) melakukan investigasi mengenai hubungan variasi pH dari 6-8 terhadap konsentrasi maksimum rhamnolipida yang dilakukan pada fermentor tumpak yang ditunjukkan pada Tabel 1. Pada kondisi pH 6-8, hasil konsentrasi biosurfaktan rhamnolipida adalah 1,31 – 5,31 g/L, dimana terjadi peningkatan konsentrasi seiring dengan peningkatan pH namun setelah tercapai kondisi optimal, peningkatan pH terjadi penurunan konsentrasi biosurfaktan. Kondisi optimum untuk menghasilkan konsentrasi maksimum rhamnolipida sebesar 5,31 g/L dicapai pada pH 6,8 dengan suhu operasi sebesar 37°C, konsentrasi glukosa sebesar 4%, dan kecepatan pengadukan sebesar 250 rpm di dalam fermentor tumpak (Chen dkk, 2007) .

Tabel 1. Hubungan pH terhadap Konsentrasi Rhamnolipida pada Fermentor Tumpak (Chen dkk., 2007)

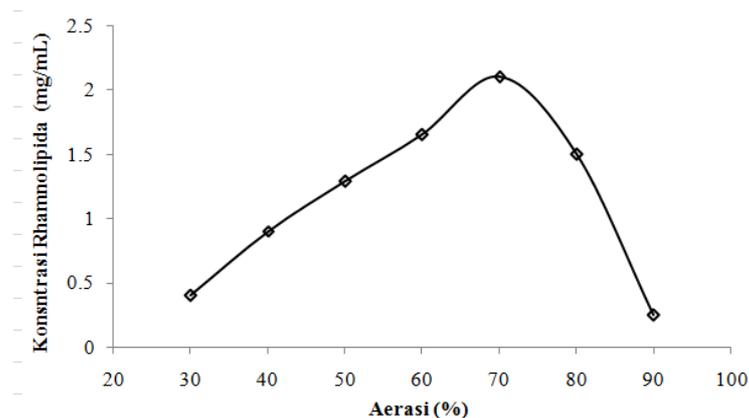
pH	Konsentrasi Maksimum Rhamnolipida (g/L)
6,0	1,31
6,5	3,98
6,8	5,31
7	5,08
7,2	4,79
7,5	3,47
8	3,74

Sebagian besar produksi biosurfaktan yang telah dilakukan menggunakan variasi suhu mulai dari 25°C sampai 30°C. Kitamoto , dkk (2001) mengamati bahwa jumlah produksi mannosylerythritol lipida tertinggi terjadi pada suhu 25°C.. Chen dkk (2007) menggunakan kondisi operasi variasi suhu 30-42°C terhadap konsentrasi maksimum rhamnolipida. Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa suhu optimum untuk menghasilkan konsentrasi maksimum Rhamnolipida sebesar 5,31 g/L adalah 37°C. Peningkatan suhu setelah suhu 37°C, konsntrasi rhamnolipida yang dihasilkan menurun dengan drastis.

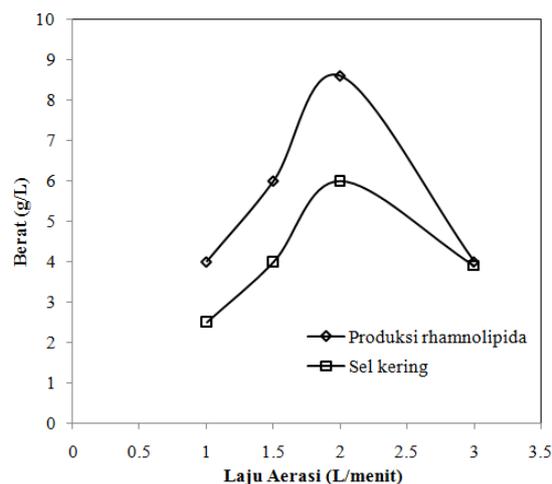
Tabel 2. Hubungan Suhu terhadap Konsentrasi Rhamnolipid pada Fermentor Sistem Tumpak

Suhu (°C)	Konsentrasi Maksimum Rhamnolipida (g/L)	
	Chen dkk, 2007	Moussa dkk, 2014
30	2,77	1.5
37	5,31	3.4
40	-	2.9
42	0,51	-

Aerasi digunakan untuk menyediakan kebutuhan oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam melakukan aktivitas metabolisme. Seiring dengan peningkatan aerasi terjadi peningkatan produksi rhamnolipida hingga 70%, setelah produksi mulai menurun seperti yang ditunjukkan Gambar 2. Di sisi lain, biosurfaktan produksi oleh *Pseudomonas aeruginosa* menggunakan gliserol sebagai substrat tetap tidak terpengaruh oleh tingkat aerasi (Silva dkk, 2010). Pertumbuhan sel dan produksi rhamnolipida menurun pada konsentrasi lebih tinggi atau lebih rendah dari 2 L/menit (Lee dkk, 2004) yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 2. Hubungan Aerasi terhadap Produk Rhamnolipida (Vanazil dkk, 2014)



Gambar 3. Hubungan Laju Aerasi terhadap Berat Sel Kering dan Produksi Rhamnolipida (Lee dkk, 2004)

Agitasi sangat penting dan dibutuhkan untuk mengetahui efisiensi perpindahan oksigen. Transfer oksigen adalah salah satu faktor kunci dalam fermentasi aerobik untuk mengoksidasi substrat. Oleh karena itu, dengan cara agitasi, laju transfer oksigen yang cukup dapat dicapai untuk meningkatkan hasil rhamnolipida. Peningkatan kecepatan agitasi produksi rhamnolipida meningkat dan itu ditemukan lebih tinggi pada 200 rpm (Vanavil dkk, 2014). Kondisi operasi lainnya yang digunakan oleh Chen dkk (2007) untuk menghasilkan konsentrasi maksimum Rhamnolipida pada fermentor sistem tumpak adalah memvariasi agitasi 125 – 500 rpm. Konsentrasi maksimum rhamnolipida dapat dihasilkan pada agitasi 250 rpm. Menurut Moussa dkk., (2014) penggunaan agitasi 200 rpm dan 250 rpm cenderung menghasilkan konsentrasi maksimum Rhamnolipida pada

agitasi 200 rpm seperti yang ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hubungan kecepatan pengadukan terhadap Konsentrasi Rhamnolipida pada Fermentor.

Agitasi (rpm)	Konsentrasi Maksimum Rhamnolipida (g/L)	
	Chen dkk., 2007	Moussa dkk., 2014
125	2,77	-
150	-	0,8
200	-	1,6
250	5,31	0,8
500	0,51	-

Kondisi Substrat: Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen memiliki peranan yang penting dalam media untuk memproduksi biosurfaktan. Nitrogen merupakan komponen dari protein yang membantu pertumbuhan mikroba dan enzim untuk proses fermentasi. Beberapa sumber nitrogen telah digunakan untuk produksi biosurfaktan seperti urea, pepton, ammonium sulfat, ammonium nitrat (Zinjarde, dkk., 1997; Thanomsub, dkk 2004). Ekstrak ragi merupakan salah satu sumber nitrogen yang paling banyak digunakan untuk produksi biosurfaktan, namun konsentrasi yang dibutuhkan tergantung pada sifat dari mikroorganisme dan media kultur (Saharan, 2011). Namun hal ini perlu diperhatikan juga bahwa penambahan sumber nitrogen menyebabkan hambatan bagi biosurfaktan rhamnolipida dari sel *P aeruginosa* (Syldatk dkk, 1985).

Kondisi Substrat: Sumber Karbon

Produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh sumber karbon yang terdapat di dalam medianya seperti glukosa, gliserol, asam lemak, dan berbagai limbah minyak dari pengolahan minyak kacang kedelai, minyak canola, minyak jagung (Raza dkk, 2007). Kandungan COD yang tinggi dapat ditambahkan suplemen dengan penambahan nitrogen. Produksi rhamnolipida pada media sumber karbon yang larut dalam air, sebagai contoh sukrosa, laktosa, fruktosa, dll, sedangkan pada sumber karbon yang tidak terlarut air seperti minyak dan alkana menghasilkan biosurfaktan yang lebih super dan mempunyai asimulasi yang baik (Lee dkk, 2004) seperti yang ditunjukkan ada Tabel 4. Penelitian yang dilakukan Pansiripat dkk (2010) menunjukkan bahwa pada fermentasi menggunakan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan bahwa perbandingan antara minyak dengan sumber karbon berupa glukosa yang paling optimum sebesar 40:1.

Tabel 4. Sumber Karbon pada Produksi Rhamnolipida

Sumber Karbon	Pertumbuhan sel	Aktivitas Pengemulsi (Unit)	Konsentrasi Rhamnolipida (g/L)	Golongan
Asam oleat	12,6 ¹	9 ¹	4,5 ³	Asam lemak
Minyak Bunga matahari			4,9 ³	Minyak
Minyak kedelai			4,8 ³	
Minyak olive	14,2 ¹	71,5 ¹	5,4 ³	
Crude oil peanut oil	7,7 ¹ -	52 ¹ 2,01 ²		
n-heksadekana	7,3 ¹	110,5 ¹		Alkana
n-tetradekana	5,5 ¹	79,5 ¹		
Sacharosa	4,2 ¹	27 ¹		Gula
Trehalosa	9,6 ¹	60,7 ¹		
Galaktosa	6,1 ¹	42,0 ¹		
Laktosa	4,8 ¹	36,9 ¹		
Fruktosa	9,5 ¹	85,4 ¹		
Manitol			3,9 ³	
Limbah Industri Sabun			12 ³	Limbah
Gliserol			3,5 ³	

¹ Lee dkk, 2004

² Thavasi dkk, 2011

³ Maqsood dkk, 2011)

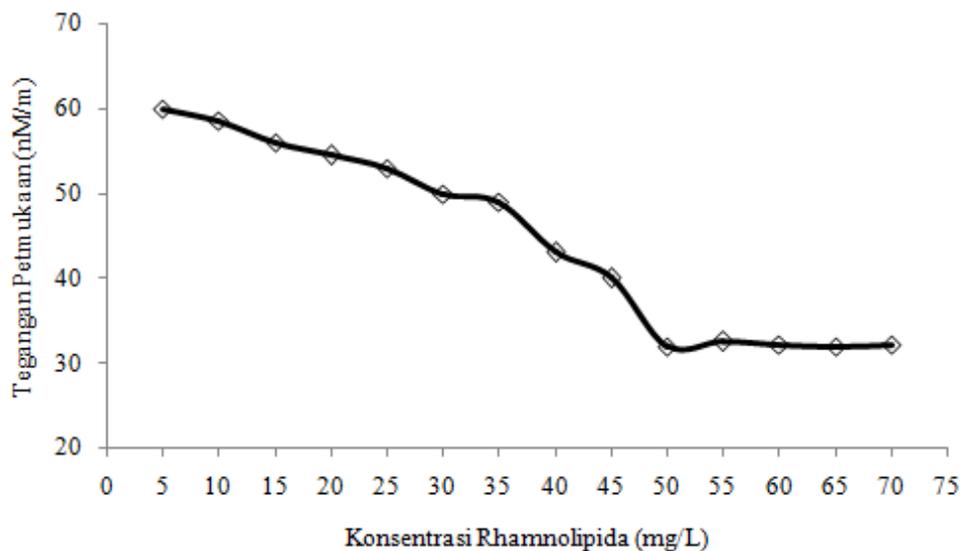
Mempertimbangan bahwa POME yang sudah mengandung sumber karbon dan sumber nitrogen maka penambahan sumber carbon dan nitrogen sebagai acuan jika ditemukan kekurangan kebutuahn carnion dan

nitrogen yang ada di dalam limbah cair tersebut.

Critical micelle concentration (CMC) ditentukan menggunakan metode tegangan permukaan. CMC ditentukan dari semilog pengeplotan tegangan permukaan terhadap konsentrasi rhamnolipida. Penurunan tegangan permukaan dengan menggunakan n-glukosa yang diawali dengan tegangan permukaan 72 mN/m menjadi 32 mN/m pada CMC 50 mg/L yang ditunjukkan pada Gambar 4. Rhamnolipida mempunyai kemampuan menurunkan tegangan permukaan 30-32 nM/m dengan aktivitas pengemulsi 10,4-15,5 U/mL filtrat, CMM 5-65 mg/L (Van Dyke dkk, 1993) sedangkan Vananil dkk (2014) mendapatkan rhamnolipida yang dapat menurunkan tegangan muka air 71 nM/m menjadi 27,5 nM/m.

Bioremediasi merupakan penggunaan mikroorganisme untuk mengurangi polutan di lingkungan. Saat bioremediasi terjadi, enzim-enzim yang diproduksi oleh mikroorganisme memodifikasi polutan dengan mengubah struktur kimia polutan tersebut, sebuah peristiwa yang disebut biotransformasi. Pada banyak kasus, biotransformasi berujung pada biodegradasi, dimana polutan terdegradasi, strukturnya menjadi tidak kompleks, dan akhirnya menjadi metabolit.

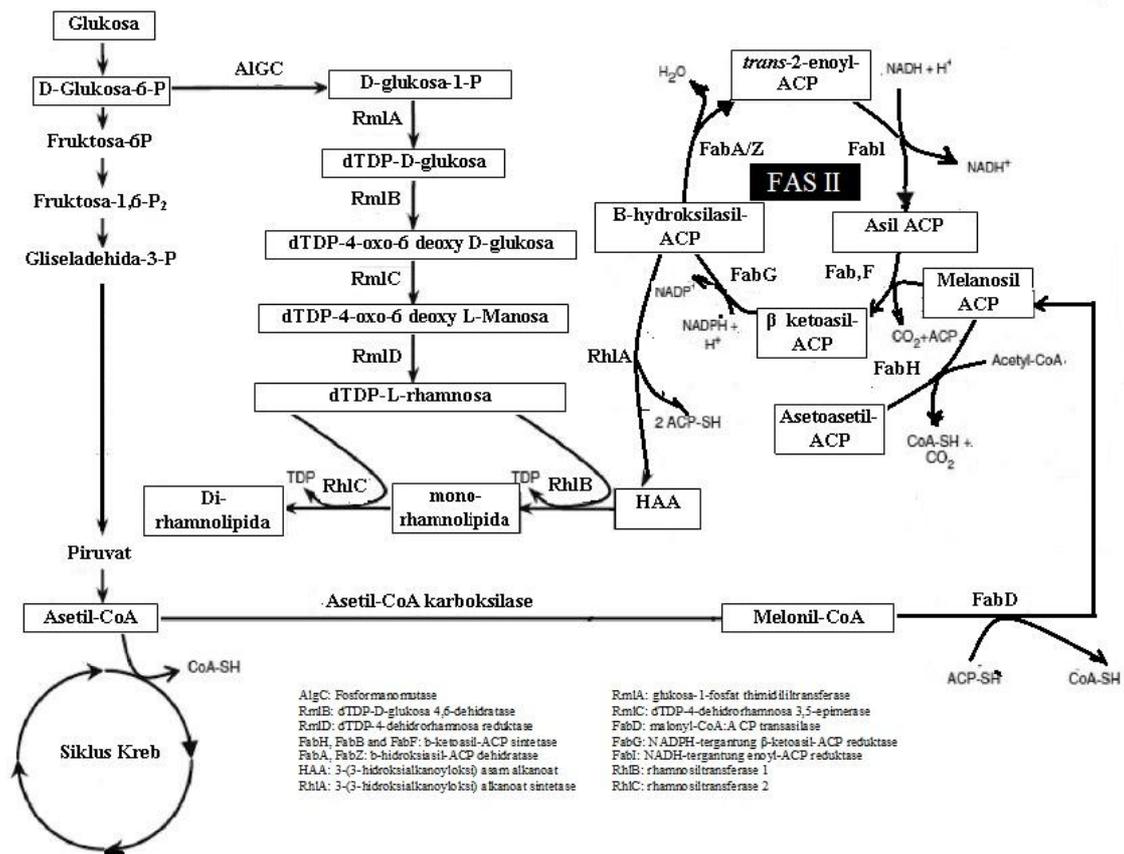
Adanya rhamnolipida menjadi kompetisi bagi surfaktan sintetis, terutama aplikasi secara luas di bidang industri. Di samping itu rhamnolipida juga berkembang diantara biosurfaktan lainnya, namun rhamnolipida masih tetap unggul karena keunggulannya sangat penting untuk kebutuhan industri. Bioremediasi dan *enhanced oil recovery* (EOR), rhamnolipida menunjukkan sifat emulsifikasi yang sangat baik, efisien menghilangkan minyak mentah dari tanah yang terkontaminasi dan memfasilitasi bioremediasi tumpahan minyak.



Gambar 4. Penentuan *Critical Miselle Concentration* Rhamnolipida (El-Sheshtawy dan Doheim, 2014)

Mekanisme degradasi hidrokarbon dari Limbah Pengolahan minyak Sawit di dalam sel bakteri *Pseudomonas* (Vanavil dkk, 2014)

Limbah pengolahan minyak sawit mengandung gula dan asam lemak. Biosintesis rhamnolipida dari sumber karbon hidrofilik yaitu glukosa, tetapi komponen asam lemak (lipida) disintesis *de novo*. Biosintesis rhamnolipida berlangsung melalui jalur klasik dari sintesis asam lemak dari unit 2-karbon menggunakan Sintase asam lemak tipe-II (FAS II). Jalur metabolisme menunjukkan kemungkinan memproduksi rhamnolipida menggunakan glukosa sebagai karbon source pada Gambar 5. L-rhamosa disintesis ketika bakteri tumbuh dengan bantuan glukosa sebagai sumber karbon. Glukosa masuk ke dalam tubuh bakteri menghasilkan D-glukosa-6-fosfat (D-glukosa-6-P) yang dikonversi oleh fosfoglukomutase (AlgC) menjadi D-glukosa-1-fosfat (D-glukosa-1-P). Selanjutnya D-glukosa 1-P digunakan oleh dTDP- (prekursor untuk L-rhamosa). Rhamnosilasi rantai asam lemak selanjutnya membentuk rhamnolipida. Dimerisasi dua rantai asam β -hidroksidekanoat. Selanjutnya dimer melakukan reaksi rhamnosilasi dengan 2 jenis rhamnosiltransferase 1 (RhIB) dan rhamnosiltransferase 2 (RhIC). Laju pertumbuhan spesifik maksimum $0,1023 \text{ h}^{-1}$ untuk mendapatkan rhamnolipida.



Gambar 6. Reaksi *metabolic pathway* dari Biosintesis Rhamnolipida dalam *P. aeruginosa* menggunakan Sumber Karbon: Glukosa. .

Mekanisme Bioremediasi *Pseudomonas aeruginosa* sebagai Biosurfaktan

Pseudomonas aeruginosa merupakan komponen mikroorganisme yang mampu mengikat molekul hidrokarbon tidak larut air dan mampu menurunkan tegangan permukaan. Biosurfaktan secara ekstraseluler menyebabkan hidrokarbon teremulsifikasi sehingga mudah untuk didegradasi oleh bakteri. Adanya biosurfaktan, substrat berupa cairan dapat teremulsi menjadi misel-misel dan bersebaran ke permukaan sel bakteri. Substrat yang padat dipecah oleh biosurfaktan, sehingga lebih mudah masuk ke dalam sel.

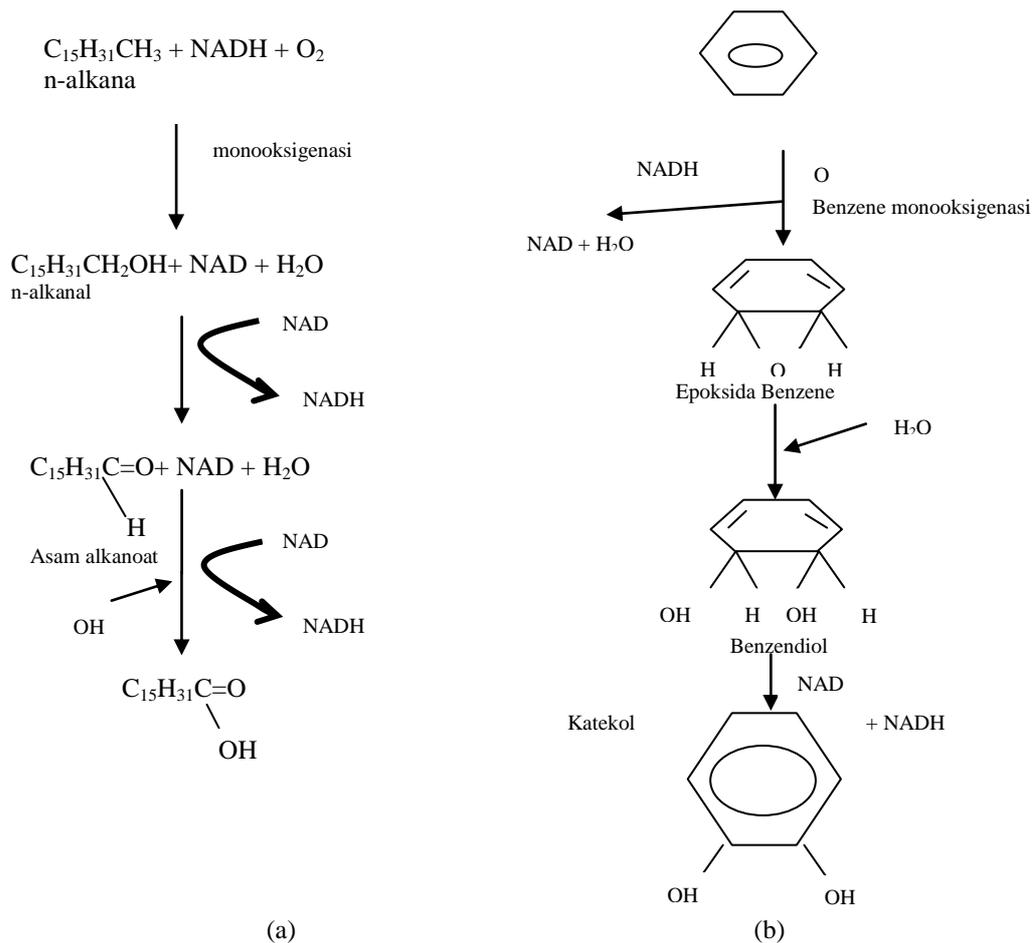
Pelepasan biosurfaktan dapat disebabkan oleh substrat hidrokarbon yang tersedia di lingkungannya. Ada 2 macam substrat, yaitu substrat yang menyebabkan biosurfaktan hanya melekat pada permukaan membran sel, namun tidak diekresikan ke dalam medium contohnya pelumas. Ada juga substrat hidrokarbon yang menyebabkan biosurfaktan juga dilepaskan ke dalam medium contohnya heksadekana. Keunggulan dari heksadekana adalah dapat menyebabkan sel bakteri lebih bersifat hidrofobik. Oleh karena itu, senyawa hidrokarbon pada komponen permukaan sel yang hidrofobik itu dapat menyebabkan sel tersebut kehilangan integritas struktural selnya sehingga melepaskan biosurfaktan untuk membran sel itu sendiri dan melepaskannya ke dalam medium.

Bakteri *Pseudomonas sp.* merupakan bakteri yang mampu mendegradasi berbagai jenis hidrokarbon. Keberhasilan penggunaan bakteri *Pseudomonas* dalam upaya bioremediasi lingkungan akibat pencemaran minyak bumi. Bahan utama minyak bumi adalah hidrokarbon alifatik dan aromatik. Selain itu, minyak bumi juga mengandung senyawa nitrogen antara 0-0,5%, belerang 0-6%, dan oksigen 0-3,5%, sehingga *pseudomonas* dapat disintesis pada limbah pengolahan minyak sawit yang lebih sederhana.

Perpindahan hidrokarbon oleh sel bakteri dapat dilakukan karena adanya biosurfaktan. Kontak langsung antara sel dan hidrokarbon terbagi menjadi 2 kondisi, jika kontak antara keduanya, ukuran hidrokarbon lebih besar dari sel mikroba, maka sel mikroba melekat pada permukaan tetesan hidrokarbon dan pengambilan substrat dilakukan dengan difusi atau transpor aktif. Perlekatan ini terjadi karena adanya biosurfaktan pada membran sel bakteri *Pseudomonas* yang disebabkan karena sel bakteri bersifat hidrofobik. Jika pada saat kontak

ukuran partikel hidrokarbon yang lebih kecil daripada sel, maka dengan mudah, hidrokarbon teremulsi atau tersolubilisasi oleh bakteri. Hidrokarbon dapat teremulsi dan tersolubilisasi dengan adanya biosurfaktan yang dilepaskan oleh bakteri *Pseudomonas* ke dalam medium. Salah satu faktor yang sering membatasi kemampuan bakteri *Pseudomonas* dalam mendegradasi senyawa hidrokarbon adalah sifat kelarutannya yang rendah, sehingga sulit mencapai sel bakteri. Kemampuan bakteri *Pseudomonas* dalam memproduksi biosurfaktan berkaitan dengan keberadaan enzim regulatori yang berperan dalam sintesis biosurfaktan.

Hidrokarbon yang dalam hal ini minyak bumi sudah ditambahkan oleh hasil fermentasi dari limbah pengolahan minyak sawit menjadi rhamnolipida oleh *Pseudomonas sp.* Rhamnolipida dan *Pseudomonas* digunakan sebagai biosurfaktan yang dapat mengolah degradasi minyak bumi. Kebutuhan berupa karbon dan nutrisi untuk fase pertumbuhannya dapat diambil dari substrat dari limbah atau dari hidrokarbon alifatik minyak bumi. Hidrokarbon alifatik yang berupa hidrokarbon alifatik jenuh/tak jenuh untuk pertumbuhan merupakan proses aerobik, sehingga hidrokarbon dapat mudah terdegradasi. Proses degradasi hidrokarbon alifatik oleh *Pseudomonas sp.* ke dalam bentuk oksidasi molekuler (O_2) sebagai sumber reaktan dan penggabungan satu atom oksigen ke dalam hidrokarbon teroksidasi. Reaksi lengkap dalam proses ini terlihat pada Gambar 6(a). Pada Gambar 6(b) menunjukkan reaksi perubahan senyawa benzena menjadi katekol.



Gambar 6. Reaksi degradasi Hidrokarbon (a) alifatik (b) aromatik pada Bioremediasi

Ucapan Terima Kasih

Kami sangat berterima kasih kepada Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik Universitas Negeri Semarang yang memfasilitasi kami dalam mempelajari dan menyelidiki biosurfaktan rhamnolipida pada matakuliah Teknologi Fermentasi berbasis konservasi.

PENUTUP

Simpulan

Review ini menyediakan informasi ilmiah tentang biosurfaktan yang dibutuhkan untuk memanfaatkan limbah cair dari industri pengolahan minyak sawit dan turunannya dengan menggunakan proses natural dan metode dikembangkan untuk meningkatkan produksi biosurfaktan. Keuntungan dari produksi ini adalah biosurfaktan adalah mengurangi biaya yang tinggi untuk proses produksi, sehingga digunakan limbah cair industri minyak sawit dan mencari informasi mikroba yang sesuai adalah *Pseudomonas aeruginosa* dengan kondisi optimum fermentasi. Sistem tumpak pada fermentor menggunakan kondisi fermentasi untuk memproduksi rhamnolipida pada pH 6,8, suhu 37°C, 6,8, aerasi 70% atau 2L/menit dan agitasi 200 rpm. Kondisi media kultur untuk kebutuhan sumber carbon dapat menggunakan 3 jenis yaitu alkana, gula, dan minyak serta limbah. Sumber nitrogen yang berhubungan dengan nutrisi lebih baik menggunakan NaNO₃. Kondisi operasi fermentasi dan kultur media sangat diperhatikan untuk didapatkan konsentrasi maksimal dari biosurfaktan. Mekanisme pathway dari glukosa menggunakan *P. aeruginosa* menjadi rhamnolipida sudah diketahui. Bioremediasi penggunaan rhamnolipida mempunyai kemampuan lebih tinggi daripada bioremediasi oleh bakterinya.

Saran

Perlu dilakukan penelitian tentang pemanfaatan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* pada media limbah industri pengolahan minyak sawit sampai didapatkan kondisi lingkungan yang optimum bagi pertumbuhan bakteri dengan hasil *yield* rhamnolipida yang aktivitas pengemulsi yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Benincasa M. 2002. *Rhamnolipid production by P. aeruginosa LB1 growing on* Buchanan S. dan Gaylinn, S. 1992. CRB Commodity Year Book. Knight-Ridder Financial Publishing, New York.
- Chen S.Y., Wei H.Y., dan Chang J.S. 2007. Repeated pH-stat fed-batch fermentation for rhamnolipid production with indigenous *Pseudomonas aeruginosa* S2. *Applied Microbiology Biotechnology*, 76(1), 67–74.
- Crognale S., D'Annibale A., Federici F., Fenice M., Quarantino D., dan Petruccioli M. 2006. Olive oil mill wastewater valorisation by fungi. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 81:1547-1555.
- El-Sheshtawy H.S., dan Doheim M.M. 2014. Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for biosurfactant production and studies of its antimicrobial activity Egyptian, *Journal of Petroleum* 23, 1–6.
- Hamman O.B., de la Rubia T., dan Martinez J. 1999. Decolorization of olive oil mill waste water by *Phanerochaete flavidobrunnea*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 18: 2410-2415.
- Kitamoto D., Ikegami T., dan Suzuki G.T. 2001. Microbial conversion of n-alkanes into glycolipid biosurfactants, mannosylerythritol lipids by *Pseudozyma (Candida antarctica)*. *Biotechnology Letters*, 23: 1709-1714.
- Lee, K.M., Hwang S.H., Ha. S.D., Jang J.H., Lim D.J., dan Kong Jai-Yui. 2004. Rhamnolipid Production in Batch and Fed-batch Fermentation using *Pseudomonas aeruginosa* BYK-2 KCTC 18012P. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 9:267-273.
- Lima de C.J.B., Ribeiro E.J., Sérvulo E.F.C., Resende M.M., dan Cardoso V.L. 2009. Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* Grown in Residual Soybean Oil. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 152: 156-168.
- Mandaki, Y.S. dan Seng, L. 2013. Palm Oil Mill Effluent (POME) from Malaysia Palm Oil Mill: Waste or Resource. *International Journal of Science, Environment and Technology*, 2(6), 1138-1155.
- Maqsood, M.I., dan Jamal, A. 2011. Factors Affecting The Rhamnolipid Biosurfactant Production. *Pakistan Journal of Biotechnology*. 8(1), 1-5.
- Maier M.R, dan Sobero´n-Chavez G. 2000. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids: biosynthesis and potential applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54:625–633.
- Moussa, T.A.A., Mohame, M.S., dan Samak, N. 2014. Production and Characterization of D-Rhamnolipid Produced by *Pseudomonas aeruginosa* TMN. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 31(4), 867-880.
- Pansiripat S., Orathai P., Ratna R., dan Boonyarach K. 2010. Biosurfactant production by *Pseudomonas*

- aeruginosa SP4 Using Sequencing Batch Reactor: Effect of Oil-to-Glucose Ratio. *Biochemical Engineering Journal*.185-191.
- Papanikolaou S., Galiotou Panayotou M., Fakas S., Komaitis M., dan Aggelis G. 2008. Citric acid production by *Yarrowia lipolytica* cultivated on olive-mill wastewater-based media. *Bioresource Technology*, 99:2419-2428.
- Rahman K.S.M., Rahman T.J., Lakshmanaperumalsamy P., Marchant R., dan Banat I.M. 2002. Emulsification potential of bacterial isolates with a range of hydrocarbon substrates. *Acta Biotechnologica*, 23, 335-345.
- Rahman K.S.M., Street G., Lord R., Kane G., Raghman T.J., Marchant R., dan Banat I.M. 2006. *Bioremediation of Petroleum Sludge using Bacterial Consortium with Biosurfactant. In: Environmental Biomediation Technologies*, Singh S.N., dan Tripathi R.D. (Eds.) Springer Publication, 391-408.
- Raza Z.A., Rehman A., Khan M.S., and Khalid Z.M. 2007. Improved production of biosurfactant by a *Pseudomonas aeruginosa* mutant using vegetable oil refinery wastes. *Biodegradation*, 18, 115-12.
- Saharan B.S., Sahu R.K., dan Sharma D. 2011. A Review on Biosurfactants: Fermentation, Current Developments and Perspectives. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal*. GEBJ-29.
- Satriadi, H., Widayat., Hadiyanto, dan Irzandi, U., dan Yonas R.. 2012. *Proses Pengolahan Limbah Industri Kelapa Sawit Dengan Mikroalga Liar*. Prosiding Seminar Nasional Sains Dan Teknologi, Fakultas Teknik, Universitas Wahid Hasyim Semarang, Vol 1, No 1.
- Soberon-Cha'ves, Aguirre-Ramirez, dan Sanchez R. 2005. The *Pseudomonas aeruginosa* RhlA enzyme is involved in rhamnolipid and polyhydroxyalkanoat production. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 32, 675-677.
- Syldatk, C., Lang, S., Wagner, F., Wray, V., dan Witte, L. 1985. Chemical and physical characterization of four interfacial-active rhamnolipids from *Pseudomonas spec.* DSM 2874 grown on n-alkanes. *Zeitschrift für Naturforschung. C*. 40: 51–60.
- Thanomsub B., Watcharachaipong T., dan Chotelersak K. 2004. Monoacylglycerols: glycolipid biosurfactants produced by thermotolerant yeast, *Candida ishiwadae*. *Journal of Applied Microbiology*, 96: 588-592.
- Van Dyke., M.I., P. Counture, M. Brauer, H. Lee, dan J.T. Trevors. 1993. *Pseudomonas aeruginosa* UG2 rhamnolipid biosurfactant: Structural characterization and their use in removing hydrophobic compounds from soil. *Canadian Journal Microbiology*., 39: 1071-1078.
- Vanavil, B., Perumalsamy, M., Rao, A.S. 2014. Studies on The Effects of Bioprocess arameters and Kinetics of Rhamnolipid Production by *P. aeruginosa* NITT 6L. *Chemical Biochemical Engineering Quarterl*, 28(3), 383-390.
- Vijayaraghavan K., dan Ahmad D. 2006. Bio hydrogen generation from palm oil mill effluent using anaerobic contact filter. *International Journal of Hydrogen Energy*, 31:1284–91.
- Wattanapenpaiboon N., dan Wahlqvist M.L. 2003. Phytonutrient deficiency: the place of palmfruit. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 12:363–368.
- Wu T.Y., Mohammad A.W., Jahim J.M., dan Anuar N. 2007. Palm oil mill effluent (POME) treatment and bio resources recovery using ultrafiltration membrane: effect of pressure on membrane fouling. *Biochemical Engineering Journal*, 35:309-17.
- Zhang H., Xiang H., Zhang G., Cao X., dan Meng Q. 2009. Enhanced treatment of waste frying oil in an activated sludge system by addition of crude rhamnolipid solution. *Journal of Hazardous Materials*, 167:217-223.
- Zinjarde S.S., Savel C., Lachke A.H., dan A. Pant. 1997. Isolation of an emulsifier from *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 using a modified mini isoelectric focusing unit. *Letters of Applied Microbiology*, 24: 117-121.