



Penapisan Biosurfaktan dari Isolat Bakteri Indigen Reservoir Minyak Bumi yang Memiliki Aktivitas Antimikroba

Isty Adhitya Purwasena¹, Dea Indriani Astuti¹, Fadilla Zahra Putri¹

¹Mikrobiologi, SITH, ITB
Email: isty@sith.itb.ac.id

Abstract. Korosi yang terjadi di industri minyak dan gas disebabkan salah satunya oleh aktivitas mikroba. Salah satu kunci terjadinya proses korosi oleh mikroba tersebut adalah biofilm yang menginduksi terbentuknya dua daerah dengan potensial berbeda sehingga mengakibatkan ion-ion Fe terlepas ke lingkungan. Biosurfaktan merupakan senyawa potensial pengganti biosida kimiawi yang dinilai kurang ramah lingkungan dan bersifat toksik dalam menghambat pertumbuhan mikroba pembentuk biofilm. Pada penelitian ini dilakukan penapisan biosurfaktan dari isolat bakteri indigen reservoir minyak bumi yang memiliki aktivitas antimikroba. Penelitian ini menggunakan 8 isolat dari sumur minyak Y sebagai bakteri uji penghasil biosurfaktan sedangkan Isolat A dan C digunakan sebagai model konsorsium bakteri pembentuk biofilm. Pengujian untuk menentukan biosurfaktan dengan aktivitas antimikroba tinggi dilakukan dengan metode *standard disc assay*. Dari hasil pengujian didapatkan bahwa biosurfaktan dan supernatan dari isolat G7 memiliki aktivitas antimikroba tertinggi terhadap isolat A sedangkan biosurfaktan D1 dan supernatan G3 memiliki aktivitas antimikroba tertinggi terhadap isolat C.

Keywords: antimikroba, biofilm, biokorosi, biosurfaktan

1 Pendahuluan

Mikroba memiliki kontribusi sekitar 50% pada proses korosi yang terjadi di sistem perpipaan industri minyak dan gas [1]. Aktivitas mikroba yang menginduksi atau mempercepat proses korosi disebut dengan *Microbial Induced Corrosion*. Biofilm merupakan salah satu faktor kunci terjadinya proses biokorosi. Hal ini dikarenakan biofilm pada pipa baja dapat menginduksi terbentuknya dua daerah dengan potensial elektrik yang berbeda. Bagian pipa baja yang terselubungi oleh biofilm merupakan daerah anoda, dimana konsentrasi oksigen pada daerah ini sangat kecil. Bagian pipa baja yang tidak terselubungi oleh biofilm merupakan daerah katoda. Konsentrasi oksigen pada

daerah ini lebih tinggi dibandingkan daerah anoda. Perbedaan potensial tersebut menyebabkan terjadinya aliran elektron dari daerah anoda ke katoda yang berakibat pada terlepasnya ion-ion Fe ke lingkungan sehingga mempercepat proses korosi [1].

Beberapa tahun terakhir dikembangkan beberapa senyawa potensial untuk menggantikan biosida kimiawi seperti gluteraldehid yang bersifat toksik dan kurang ramah lingkungan dalam menghambat pertumbuhan mikroba penyebab biokorosi. Salah satu senyawa potensial tersebut adalah biosurfaktan yang diketahui memiliki aktivitas antiadhesif, antimikroba dan antibiofilm [2]. Biosurfaktan merupakan senyawa ampifilik yang diproduksi oleh mikroorganisme dan terakumulasi pada antarmuka 2 fasa yang berbeda sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan suatu cairan. Biosurfaktan memiliki biodegradabilitas yang cukup tinggi, toksisitas rendah, dan stabil pada lingkungan dengan kondisi fisika kimia yang beragam sehingga memungkinkan untuk diaplikasikan sebagai senyawa antimikroba dalam mencegah terjadinya biokorosi di sistem perpipaan industri minyak dan gas [3].

Pada penelitian ini dilakukan penapisan biosurfaktan dari isolat bakteri sumur minyak bumi yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap mikroba pembentuk biofilm dan penyebab biokorosi. Oleh karena itu dilakukan pengujian terhadap masing-masing biosurfaktan tersebut dalam mengeleminasi mikroba pembentuk biofilm dan terindikasi menyebabkan biokorosi.

2 Metode Penelitian

2.1 Persiapan Bakteri

Isolat bakteri penghasil biosurfaktan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat G7, G3, D1, T4, M2, N10, E3, dan G6 yang diisolasi dari sumur minyak bumi Y [4]. Masing-masing isolat diaktivasi di dalam medium NB



(Nutrient Broth) 1 kali selama 24 jam dan SMSSe (*Stone Mineral Salt Solution* + 0,1% ekstrak ragi) yang ditambahkan 2% minyak bumi 2 kali selama 24 jam. Inkubasi untuk aktivasi dilakukan pada temperatur 50°C.

Dalam penelitian ini digunakan pula isolat A dan C yang berasal dari air formasi sumur minyak bumi sebagai model komunitas bakteri pembentuk biofilm [5]. Aktivasi isolat A dan C dilakukan sebanyak 3 kali sebanyak 10 % (v/v) dalam medium Nutrient Broth pada temperatur 50°C. Waktu inkubasi yang digunakan untuk aktivasi tersebut berdasarkan pada umur inokulum masing-masing isolat yang diperoleh dari kurva tumbuh [5].

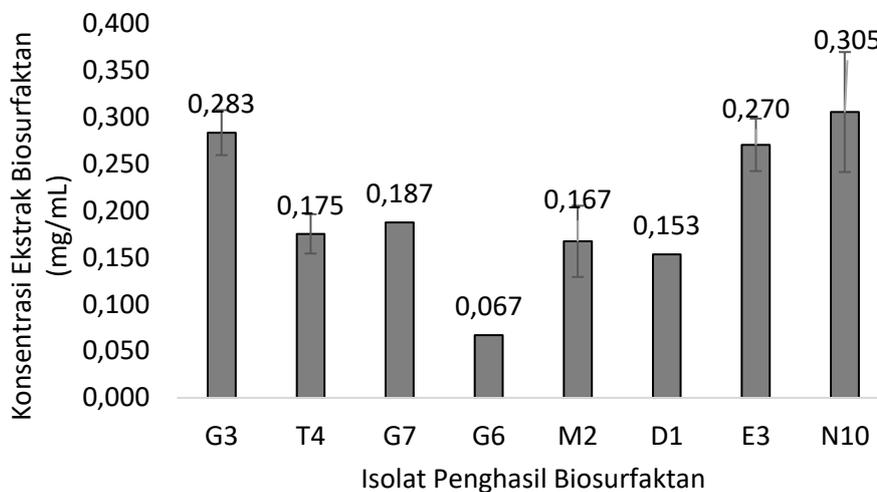
2.2 Produksi dan Ekstraksi Biosurfaktan

Masing-masing isolat bakteri penghasil biosurfaktan yang telah diaktivasi kemudian ditumbuhkan pada temperatur inkubasi 50°C selama 48 jam dalam medium produksi SMSSe (*Stone Mineral Salt Solution* + 0,1% ekstrak ragi) dengan penambahan 2% minyak bumi. Kultur dalam medium produksi yang telah diinkubasi disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm dalam temperatur 4°C selama 30 menit. Supernatan hasil sentrifugasi diambil dan dilakukan presipitasi asam dengan menambahkan HCl pekat hingga mencapai pH 2 dan disimpan pada temperatur 4°C selama 12 jam. Supernatan yang telah disimpan selama 12 jam disentrifugasi kembali dengan kecepatan 7500 rpm pada temperatur 4°C selama 15 menit. Pelet yang terbentuk merupakan biosurfaktan yang kemudian diambil untuk dikeringkan. Bagian supernatan digunakan kembali untuk tahap ekstraksi biosurfaktan lanjutan dengan ekstraksi kloroform : methanol (2:1). Fasa organik yang mengandung biosurfaktan terbentuk di bagian bawah. Fasa tersebut diambil dan dikeringkan bersamaan dengan pelet hasil sentrifugasi sebelumnya pada temperatur 50°C. Ekstrak biosurfaktan hasil pengeringan digunakan untuk tahap pengujian kemampuan antimikroba [6].

2.3 Pengujian Kemampuan Antimikroba Biosurfaktan

Pengujian kemampuan antimikroba masing-masing biosurfaktan dilakukan dengan menggunakan metode *standard disc assay*. Isolat pembentuk biofilm ditumbuhkan dengan metode sebar pada cawan petri. Lalu diletakkan kertas cakram yang telah direndam biosurfaktan pada 6 titik di atas agar pada cawan petri. Penentuan kemampuan antimikroba biosurfaktan dilakukan dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk pada cawan petri [7].

3 Hasil dan Pembahasan



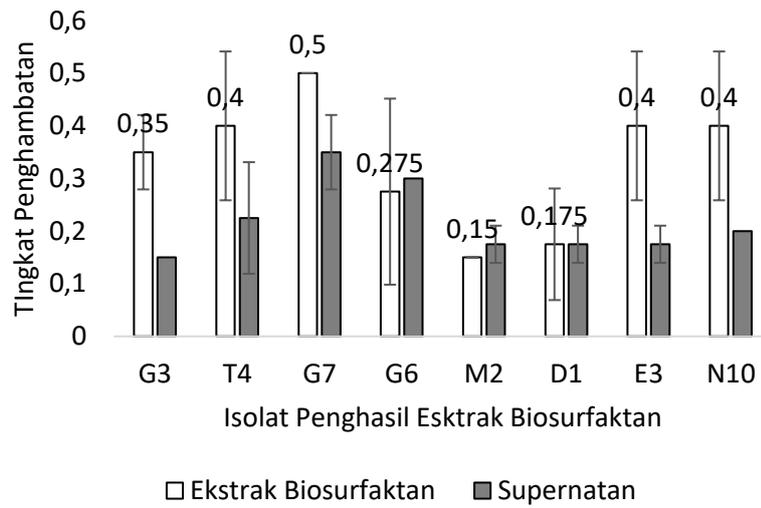
Gambar 1. Grafik perolehan ekstrak biosurfaktan pada masing-masing isolat penghasil biosurfaktan.

Berdasarkan **Gambar 1**, perolehan ekstrak biosurfaktan dari 8 isolat bervariasi dengan perolehan tertinggi terdapat pada isolat N10, G3 dan E3 sedangkan perolehan terendah yaitu pada isolat G6. Perbedaan perolehan ekstrak biosurfaktan ini dapat terjadi karena perbedaan karakteristik dari tiap isolat sehingga mekanisme produksi biosurfaktan juga berbeda pada tiap jenis isolat tersebut, perbedaan waktu inkubasi pada proses produksi misalnya memiliki

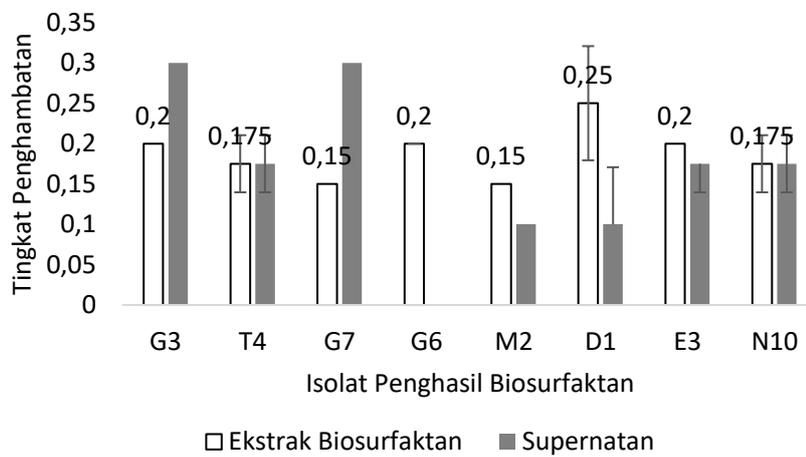


pengaruh dalam produksi [8] , selain itu sumber karbon dan solubilitasnya dalam air juga dapat mempengaruhi proses produksi biosurfaktan oleh isolat penghasil biosurfaktan [9].

a



b



Gambar 2. Grafik tingkat penghambatan biosurfaktan dan supernatan dari isolat sumur minyak bumi terhadap isolat A (a) dan terhadap isolat C (b).

Gambar 2 di atas menunjukkan bahwa semua biosurfaktan dan supernatan dari isolat sumur minyak bumi Y memiliki kemampuan antimikroba terhadap isolat A sedangkan pada isolat C hanya supernatan dari isolat G6 yang tidak memiliki aktivitas antimikroba. Aktivitas antimikroba tertinggi terhadap isolat A adalah biosurfaktan dan supernatan yang berasal dari isolat G7, sedangkan pada isolat C adalah biosurfaktan yang berasal dari isolat D1 dan supernatan yang berasal dari isolat G3.

Perbedaan aktivitas antimikroba biosurfaktan terhadap kedua isolat uji pembentuk biofilm dapat terjadi karena adanya perbedaan karakteristik dari isolat A dan C. Berdasarkan penelitian sebelumnya [5], diketahui isolat A berkerabat dekat *Pseudomonas aeruginosa* strain DSM 50071, strain NBRC 12689, dan strain ATCC 10145. Isolat C juga diketahui berkerabat dekat dengan *Pseudomonas aeruginosa* strain NBRC 12689 dan strain ATCC 10145. Namun keduanya memiliki karakteristik berbeda salah satunya yaitu pertumbuhan pada medium *nutrient broth* (NB), isolat A cenderung banyak menghasilkan matriks yang melayang-layang di medium namun tidak pada isolat C. Perbedaan kedua karakteristik isolat A dan C ini dapat menjadi salah satu dugaan perbedaan mekanisme antimikroba dari biosurfaktan yang sama.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengujian terhadap supernatan isolat penghasil biosurfaktan. Adapun aktivitas antimikroba yang berbeda antara supernatan dan biosurfaktan dari isolat yang sama dapat terjadi bergantung pada senyawa antimikroba yang dimiliki isolat tersebut. Pada supernatan, kandungan senyawa yang dimiliki tidak hanya biosurfaktan tetapi juga terdapat metabolit lain yang memungkinkan memiliki aktivitas antimikroba. Hal ini menjadi salah



satu dugaan pada supernatan yang aktivitas antimikrobanya lebih besar dibandingkan biosurfaktan [10].

Tingginya aktivitas antimikroba biosurfaktan bila dibandingkan dengan supernatan dari isolat yang sama dapat terjadi karena senyawa yang memiliki aktivitas antimikroba terdapat pada biosurfaktan, sehingga ketika dilakukan pengujian terhadap supernatan maka aktivitas antimikrobanya menurun. Hal ini dikarenakan konsentrasi biosurfaktan pada supernatan terencerkan dan memungkinkan adanya interaksi dengan metabolit lain yang menyebabkan aktivitas antimikroba di supernatan menurun [11].

Beberapa kemungkinan mode aksi biosurfaktan sebagai antimikroba antara lain, melakukan adhesi terhadap permukaan sel sehingga menyebabkan membran sel target tidak stabil, memecah siklus nutrisi pada sel target, menyisipkan komponen asam lemak biosurfaktan pada membran sel yang menyebabkan struktur membran sel berubah sehingga integritas sel terganggu, dan biosurfaktan juga mampu mengganggu interaksi antara elemen sitoskeleton dan membran plasma sehingga dapat menyebabkan membran terpisah dari sitoplasma [11].

4 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa biosurfaktan dan supernatan dari isolat G7 memiliki aktivitas antimikroba tertinggi terhadap isolat A sedangkan biosurfaktan D1 dan supernatan G3 memiliki aktivitas antimikroba tertinggi terhadap isolat C.

Referensi

- [1] Little, B. J dan Lee, J. S. 2007. *Microbiologically Influenced Corrosion*. New Jersey : John Wiley and Son. Hal : 1

- [2] Rodrigues L. R., Teixeira J. A., Mei H. C., Oliveira, R. 2006. Physicochemical and functional characterization of a biosurfactant produced by *Lactococcus lactis*. *Colloids Surf B*. 49 :78–85
- [3] Ruggeri, C., Franzetti, A., Bestetti, G., Caredda, P., Colla, P. L., Pintus, M., Sergi, S., Tamburini, E. 2009. Isolation and characterization of surface active compound producing bacteria from hydrocarbon-contaminated environments. *Int Biodeterior Biodegra*. 63:936–942
- [4] Putri, R.E. 2016. *Pseudoxanthomonas sp. G3, Isolat Bakteri Penghasil Biosurfaktan yang Potensial untuk Aplikasi MEOR*. 2016.Skripsi: Institut Teknologi Bandung. 32-33
- [5] Purwasena, I. A., dan Siwi, I. K. 2016. Pengaruh nanopartikel minyak atsiri serai dapur *Cymbopogon citratus* terhadap perubahan komunitas bakteri pembentuk biofilm yang diisolasi dari air formasi sumur minyak bumi di Sumatra Selatan. Repository Tugas Akhir SITH ITB .2
- [6] Pereira, J.F.B., Gudina, E.J., Costa, R., Vitorino, R., Teixeira, J.A., Coutinho, J.A.P., dan Rodrigues, L.R. 2013. Optimization and Characterization of Biosurfactant Production by *Bacillus subtilis* isolates towards microbial enhanced oil recovery applications. *Fuel*. 111. 259-268
- [7] Dusane, D.H., Pawar, V.S. P., Nancharaiah, Y.V., Venugopalan, V.P., Kumar, A. R., dan Zinjarde, S. S. 2011. Anti-biofilm potential of a glycolipid surfactant produced by a tropical marine strain of *Serratia marcescens*. *Biofouling*. 27(6): 645-654
- [8] Xia, W.J., Dong, H.P., Yu, L., Yu, D.F. 2011. Comparative study of biosurfactant produced by microorganisms isolated from formation water of petroleum reservoir. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 392: 124-130
- [9] Hamed, S.B., Smii, L., Ghram, A., Maaroufi, A. 2012. Screening of potential biosurfactant-producing bacteria isolated from seawater biofilm. *African Journal of Biotechnology*. 11(77): 14153-14158.
- [10] Valentin, B.B., Vinod, V., Beulah, M.C. 2011. Asian Pasific Journal of Tropical Disease. 299-303antibiofilm agents. *Appl Microbiol Biotechnol*. 98 (24):9915–9929
- [11] Gomaa, E.Z. 2012. Antimicrobial activity of a biosurfactant produced by *Bacillus licheniformis* strain M104 grown on whey. *African Journal of Microbiology Research Vol*. 6(20):4396-4403.