

**PRODUKSI BIOSURFAKTAN GLIKOLIPID DARI BAKTERI
Leclercia sp. PKT D4 SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTIMIKROBA**

(Skripsi)

Oleh

SALSABILA



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

ABSTRAK

PRODUKSI BIOSURFAKTAN GLIKOLIPID DARI BAKTERI *Leclercia* sp. PKT D4 SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIMIKROBA

Oleh

SALSABILA

Biosurfaktan merupakan molekul yang dapat menurunkan tegangan permukaan yang berasal dari mikroorganisme dan memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Tujuan penelitian ini untuk memperoleh biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4, mengetahui karakteristik biosurfaktan yang dihasilkan dan uji bioaktivitasnya sebagai antimikroba. Tahapan yang dilakukan meliputi produksi biosurfaktan, ekstraksi biosurfaktan menggunakan metode presipitasi asam, karakterisasi biosurfaktan menggunakan FT-IR dan KLT, serta uji antimikroba menggunakan metode difusi cakram. Hasil menunjukkan bahwa bakteri lokal isolat PKT D4 mampu memproduksi biosurfaktan pada sumber karbon minyak zaitun 10%, sumber nitrogen urea 0,35%, kadar salin 0,5%, pH 8 serta waktu inkubasi 72 jam sebanyak 0,0433 g/L. Biosurfaktan ini memiliki nilai indeks emulsi (IE₂₄) 75%, lebar zona bening pada uji *oil spreading* 2,5 cm, dan hasil positif pada uji *drop collapse*. Berdasarkan hasil karakterisasi FT-IR dan KLT didapatkan biosurfaktan yang diproduksi merupakan golongan glikolipid jenis rhamnolipid. Uji antimikroba menunjukkan biosurfaktan ini *resistant* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta *susceptible* terhadap jamur *Aspergillus fumigatus* dan *Candida albicans*.

Kata kunci: biosurfaktan, glikolipid, *Leclercia* sp., antimikroba.

ABSTRACT

PRODUCTION OF GLYCOLIPID BIOSURFACTANTS FROM BACTERIA *Leclercia* sp. PKT D4 AND ITS BIOACTIVITY TEST AS ANTIMICROBIAL

By

SALSABILA

Biosurfactants are molecules that can reduce the surface tension of microorganisms and have antimicrobial properties. The aim of this study was to obtain glycolipid biosurfactants from *Leclercia* sp. PKT D4, knowing the characteristics of the biosurfactant produced and its bioactivity test as an antimicrobial. The steps involved included biosurfactant production, biosurfactant extraction using the acid precipitation method, biosurfactant characterization using FT-IR and TLC, and antimicrobial testing using the disc diffusion method. The results showed that the local bacterial isolate PKT D4 was able to produce biosurfactant at 10% olive oil carbon source, 0.35% urea nitrogen source, 0.5% saline content, pH 8 and 72 hours incubation time of 0.0433 g/L. This biosurfactant has an emulsion index value (IE₂₄) of 75%, the width of the clear zone in the oil spreading test is 2.5 cm, and the result is positive in the drop collapse test. Based on the results of FT-IR and TLC characterization, it was found that the biosurfactants produced were rhamnolipid type glycolipids. Antimicrobial tests showed that this biosurfactant was resistant to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and susceptible to *Aspergillus fumigatus* and *Candida albicans*.

Keywords: biosurfactant, glycolipid, *Leclercia* sp., antimicrobial.

**PRODUKSI BIOSURFAKTAN GLIKOLIPID DARI BAKTERI
Leclercia sp. PKT D4 SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI
ANTIMIKROBA**

Oleh

SALSABILA

SKRIPSI

**Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023**

Judul Skripsi : **PRODUKSI BIOSURFAKTAN GLIKOLIPID DARI BAKTERI *Leclercia* sp. PKT D4 SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIMIKROBA**


Nama Mahasiswa : **Salsabila**

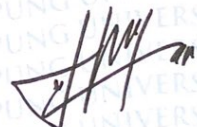
No. Pokok Mahasiswa : 1817011044

Jurusan : Kimia

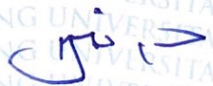
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Drs. Aspiya Laila, M.S.
NIP 19600909 198811 2 001


Dr. Nurhasanah, M.Si.
NIP 19741211 199802 2 001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA


Mulyono, Ph.D.
NIP 19740611 200003 21 002

MENGESAHKAN

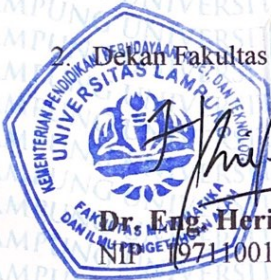
1. Tim Penguji

Ketua : Drs. Aspita Laila, M.S.

Sekretaris : Dr. Nurhasanah, M.Si.

**Penguji
Bukan Pembimbing : Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.**

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 19711001 200501 1 002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 31 Mei 2023

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Salsabila
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011044
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya berjudul "**Produksi Biosurfaktan Glikolipid dari Bakteri *Leclercia* sp. PKT D4 Serta Uji Bioaktivitasnya Sebagai Antimikroba**" adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagai mestinya.

Bandar Lampung, 31 Mei 2023

Yang Menyatakan,



Salsabila

NPM1817011044

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Salsabila, lahir di Bandar Lampung pada tanggal 10 Agustus 2000. Penulis merupakan putri kedua dari dua bersaudara, buah hati dari pasangan Bapak Bahrizal dan Ibu Kartina.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-kanak di TK Sari Teladan pada tahun 2006. Menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 1 Beringin Raya pada tahun 2012, menyelesaikan Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 14 Bandar Lampung pada tahun 2015, dan menyelesaikan Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 7 Bandar Lampung pada tahun 2018. Pada tahun 2018, penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia, penulis aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) sebagai anggota Bidang Kaderisasi dan Pengembangan Organisasi (KPO) Periode kepengurusan 2019 dan 2020. Penulis pernah mengikuti kegiatan Karya Wisata Ilmiah (KWI) yang diadakan oleh Badan Eksekutif Mahasiswa (BEM) FMIPA pada tahun 2018 di Desa Tanjung Tirto, Kecamatan Way Bungur, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung. Penulis juga pernah mengikuti Forum Kaderisasi FMIPA (FORKAMI) yang

diadakan oleh BEM FMIPA Universitas Lampung sebagai Komisi Disiplin pada kegiatan Pengenalan Kehidupan Kampus bagi Mahasiswa Baru (PKKMB) tahun 2019. Selain aktif di organisasi, penulis pernah menjadi asisten praktikum Biokimia di Jurusan Kimia dan praktikum Pengantar Kimia Analisis di Jurusan Biologi Terapan.

Penulis mengikuti Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Kelurahan Rajabasa Raya, Kecamatan Rajabasa, Kota Bandar Lampung pada Februari-Maret 2021. Kemudian penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Laboratorium Lingkungan Dinas Lingkungan Hidup Pemerintah Provinsi Lampung pada Oktober 2021. Penulis melakukan penelitian di Laboratorium Biokimia FMIPA Universitas Lampung pada tahun 2022 dengan judul “**Produksi Biosurfaktan Glikolipid dari Bakteri *Leclercia* Sp. PKT D4 Serta Uji Bioaktivitasnya Sebagai Antimikroba**”.

MOTTO

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya”

(Q.S. Al-Baqarah:286)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan”

(Q.S. Al-Insyirah:5)

“Ketika kamu mengalami kesulitan dan memutuskan untuk tidak menyerah, itu adalah kekuatan”

(Mahatma Gandhi)

“Apapun yang menjadi takdirmu, akan mencari jalannya menemukanmu”

(Ali Bin Abi Thalib)

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

Dengan mengucapkan *Alhamdulillahillobbil 'alamin* atas segala karunia, berkah, rahmat dan ridho Allah yang begitu besar kepada penulis.

Kupersembahkan skripsi ini kepada :

**Keluargaku tercinta; Papa Bahrizal, Mama Kartina dan
Uni Meryza Purnama**

Terima kasih Papa, Mama dan Uni yang selalu mendoakan tiada henti, memberikan semangat, kasih sayang dan kekuatan dalam segala kondisi. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan perlindungan di dunia maupun di akhirat untuk kita sekeluarga. Aamiin.

Dengan rasa hormat saya kepada:

**Ibu Dra. Aspita Laila, M.S., Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si., Bapak Dr.
Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.,** serta seluruh dosen Jurusan Kimia FMIPA
Universitas Lampung

Teman-teman dan semua orang baik yang telah mendo'akan.

Almamater Tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillah, puji dan syukur penulis ucapkan atas kehadiran Allah Subhanahu wa Ta'ala yang telah memberikan kemudahan dan melimpahkan rahmat karunia serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Produksi Biosurfaktan Glikolipid dari Bakteri *Leclercia* Sp. PKT D4 Serta Uji Bioaktivitasnya Sebagai Antimikroba”**. Pada pelaksanaan dan penulisan skripsi ini penulis mendapat bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, secara khusus penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku; Papa Bahrizal dan Mama Kartina untuk segala do'a, nasihat, *support*, pengorbanan, perjuangan, sabar dan kasih sayangnya.
2. Kakakku; Meryza Purnama, S.E. Terima kasih sudah mendengarkan keluh kesah yang hampir setiap hari dan tiada hentinya menyemangati penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S., selaku Dosen Pembimbing I atas segala bimbingan, ilmu, kesabaran, waktu dan motivasinya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Ibu Dr. Nurhasanah S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing II atas segala saran, bimbingan, ilmu, semangat, kesabaran, dan waktunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembahas atas waktu, semangat, saran-saran, dan arahan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan saran dan nasihat selama penulis menjadi mahasiswa.

7. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila.
8. Bapak dan Ibu Dosen jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah memberikan ilmu dan pengetahuannya, serta pembelajaran selama proses perkuliahan berlangsung.
9. Seluruh laboran, staff, dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA Unila. Terima kasih telah memberikan bantuan dan pelayanan terbaik.
10. Salsabilla Bethari Purworini, S.Si., untuk selalu bersama dalam keadaan apapun dari hari pertama penulis berkuliah hingga akhirnya dapat menyelesaikan skripsi ini. Terima kasih untuk semua do'a, dukungan, kesabaran dan kebaikan hatinya.
11. Silvana Dika Nugraha, S.Kom., Leonardo San Afria Dika Doloksaribu, Prima Cahya Hapsari, S.Pd., Nabila Amara, Maulana Yusuf, S.Mat., Nauval Ramadhan Desta Saputra, terima kasih untuk hiburan, canda dan tawa, terutama semua hal untuk bersenang-senang.
12. Vezhia Sheiscatamya, S.Si., dan Yanesta Oxvyena, S.Si., untuk bantuan, semangat, canda tawa selama proses perkuliahan hingga selesai. Terima kasih untuk semua pengalaman serunya!.
13. Teman-teman Nurhasanah's Research'18; Aulia Siti Pradina, Nur Mayana Putri, Vezhia Sheiscatamya, Muhammad Aan Saputra. Terima kasih atas bantuan dan kerja samanya sehingga penulis termotivasi untuk menyelesaikan skripsi ini.
14. Grup Laskar Remix; Betha, Vei, Anes, Aldo, Vincent, Reyhan yang udah sepi, semoga kalian diberikan kelancaran ke depannya, semoga bisa kumpul lagi.
15. Syifa Nurul Fajrin, Nabilla Ajeng Ningtiyas, Dewi Marlina atas semangat dan dukungannya kepada penulis.
16. Zahra, Wulan, Tri, Shafa, Savol, Putri, elis, kokom, age, rista, oliv, risna, kana, ninid, reyzka dan seluruh teman-teman kelas C'18 atas bantuan, semangat dan motivasinya.
17. Kak Aiga, Kak Qonita, Kak Ria, Kak Melly, Kak Grace, Kak Firi, Kak Putri, Kak Amel, Kak Adel, Mba Siwi atas segala dukungan, arahan dan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

18. EkaCand, Lily, Lupia, Dwi, April, Andika, Ridho, Raifar, Firda, Vivi, Ejak, Ayu, Neng, Kania, Hadi, Indah, Rara, Ocha, Mauren, Munifah, Mba Hanisa, Mba Putri, Mba Ella dan semua penghuni Lab Biokim lainnya yang tidak bisa disebutkan satu persatu. Terima kasih untuk semangat dan kerja samanya selama penelitian.
19. Teman-teman Jurusan Kimia angkatan 2018. Terima kasih dukungan, semangat dan bantuannya.
20. Kakak-kakak angkatan 2015, 2016, dan 2017 serta adik-adik angkatan 2019 dan 2020. Terima kasih atas saran, semangat dan bantuannya.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini. Semoga ketulusan bapak, ibu, dan rekan-rekan semua mendapat balasan pahala baik dari Allah SWT. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis serta pembaca.

Bandar Lampung, Mei 2023

Penulis

Salsabila

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Biosurfaktan	4
2.2. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan.....	4
2.2.1. Substrat Pertumbuhan.....	5
2.2.2. Kondisi Lingkungan	5
2.3. Jenis-Jenis Biosurfaktan	6
2.4. Glikolipid.....	7
2.5. Rhamnolipid	8
2.6. <i>Leclercia</i> sp.	8
2.7. Uji Senyawa Biosurfaktan.....	9
2.7.1. Uji Emulsifikasi	9
2.7.2. Uji <i>Oil Spreading</i>	10
2.7.3. Uji <i>Drop Collapse</i>	10
2.8. Ekstraksi Biosurfaktan.....	10
2.9. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	11
2.10. <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FT-IR).....	12

2.11. Antimikroba.....	14
2.11.1. Antibakteri	14
2.11.2. Antijamur	15
III. METODE PENELITIAN	16
3.1. Waktu dan Tempat.....	16
3.2. Alat-Alat yang digunakan.....	16
3.4. Metode Penelitian	17
3.4.1. Tahap Persiapan	17
3.4.2. Pembuatan Media	17
3.4.3. Peremajaan Bakteri Lokal PKT D4	18
3.4.4. Produksi Biosurfaktan.....	19
3.4.5. Ekstraksi Biosurfaktan.....	20
3.4.6. Analisis Biosurfaktan.....	21
3.4.7. Uji Biosurfaktan Sebagai Antimikroba.....	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	24
4.1. Isolat Lokal PKT D4.....	24
4.2. Biosurfaktan	25
4.3. Ekstrak Kasar Biosurfaktan	29
4.3. Analisa Biosurfaktan.....	29
4.4. Aktivitas Biosurfaktan dari Bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4 sebagai Antimikroba.....	32
V. SIMPULAN DAN SARAN.....	37
5.1. Simpulan.....	37
5.2. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN.....	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Mikroba penghasil biosurfaktan dan jenis biosurfaktan yang dihasilkannya (Kosaric, 1992).....	6
2. Data FTIR Biosurfaktan Glikolipid Jenis <i>Rhamnolipid</i>	32
3. Hasil uji bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dari biosurfaktan yang diproduksi oleh bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	33
4. Hasil uji bioaktivitas antibakteri terhadap bakteri <i>E. coli</i> dari biosurfaktan yang diproduksi oleh bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	34
5. Hasil uji bioaktivitas antijamur terhadap jamur <i>A. fumigatus</i> dari biosurfaktan yang diproduksi oleh bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	35
6. Hasil uji bioaktivitas antijamur terhadap jamur <i>C. albicans</i> dari biosurfaktan yang diproduksi oleh bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	35

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. (a) Mannosylerythritol lipid (b) Surfaktin (c) Trehalose lipid (d) Rhamnolipid (e) Fosfolipid (f) Emulsan (Fakruddin 2012).	7
2. Spektra FT-IR strain <i>P. Aeruginosa</i> SMVIT 1 (Rath <i>et al.</i> , 2016).	13
3. Spektra FTIR sampel biosurfaktan dari bakteri lokal isolat PKT D4 (Rosi, 2022).	13
4. Diagram alir penelitian	23
5. Isolat PKT D4 yang telah diremajakan	24
6. Hasil emulsifikasi untuk: (a) kontrol negatif; (b) sampel biosurfaktan dari bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	26
7. Hasil <i>oil spreading</i> untuk: (a) kontrol negatif; (b) sampel biosurfaktan dari bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	27
8. Hasil <i>drop collapse</i> untuk: (a) sampel biosurfaktan dari bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4; (b) kontrol negatif.	27
9. Hasil KLT dengan menggunakan eluen kloroform; metanol; asam asetat (65:15:2) (a) di bawah sinar UV 254 nm (b) setelah penyemprotan reagen molisch pada biosurfaktan dari bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	28
10. Ekstrak Kasar Biosurfaktan.	29
11. Hasil KLT (a) di bawah sinar UV 254 nm (b) setelah disemprotkan reagen molisch pada biosurfaktan dari bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4 (c) setelah disemprotkan reagen molich pada <i>Ochrobactrum anthropi</i> HM-1.	30
12. (A) Spektra FT-IR Biosurfaktan dari bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strain KVD-HM52 (Deepika <i>et al.</i> , 2015). (B) Hasil Spektra FTIR biosurfaktan dari bakteri <i>Leclercia</i> sp. PKT D4.	31

13. Uji antibakteri Biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4 terhadap bakteri *E. coli* pada konsentrasi (a) 10 ppm, (b) 30 ppm, (c) 60 ppm, (d) 100 ppm. 45
14. Uji antibakteri Biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4 terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi (a) 10 ppm, (b) 30 ppm, (c) 60 ppm, (d) 100 ppm. 46
15. Uji antijamur Biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4 terhadap jamur *A. fumigatus* pada konsentrasi (a) 10 ppm, (b) 30 ppm, (c) 60 ppm, (d) 100 ppm. 46
16. Uji antijamur Biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4 terhadap jamur *C. albicans* pada konsentrasi (a) 10 ppm, (b) 30 ppm, (c) 60 ppm, (d) 100 ppm. 46

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Surfaktan merupakan zat aktif permukaan yang memiliki karakteristik utama yaitu gugus polar dan non polar yang berada pada suatu molekul yang sama. Surfaktan dapat digunakan sebagai penurun tegangan permukaan. Di Indonesia produksi surfaktan masih terbatas sedangkan kebutuhannya kian meningkat. Menurut kepala Subdirektorat Industri Kimia Organik Dasar, Kementerian Perindustrian, Indonesia belum memiliki industri yang memproduksi surfaktan yang kebutuhannya mencapai 3 juta sampai 9 juta ton, kebutuhan surfaktan selama ini dipenuhi oleh impor. Produksi surfaktan dalam negeri hanya sekitar 55000 ton per tahun itupun diproduksi dari Petroleum yang tak ramah lingkungan dan tidak ramah untuk manusia. Surfaktan dapat diproduksi dengan sintesis kimia ataupun biokimia, surfaktan yang diproduksi dengan biokimia yaitu dari isolat bakteri disebut juga dengan biosurfaktan (Khayam, 2014).

Biosurfaktan yang dihasilkan oleh berbagai mikroorganisme terutama bakteri, jamur dan khamir memiliki komposisi kimia yang beragam dan sifatnya serta jumlahnya tergantung pada jenis mikroorganisme yang memproduksi biosurfaktan tertentu (Sharma *et al.*, 2011). Menurut Mukherjee *et al.* (2006) kelebihan biosurfaktan dibandingkan dengan surfaktan sintesis kimia antara lain mudah terdegradasi oleh alam, rendah toksisitas, dan efektif dalam lingkungan pH serta suhu ekstrim sehingga mudah diaplikasikan. Faktor yang mempengaruhi produksi biosurfaktan dari bakteri diantaranya substrat pertumbuhan dan kondisi

lingkungan seperti suhu, agitasi, aerasi, konsentrasi ion logam, pH, konsentrasi NaCl, serta sumber karbon dan nitrogen yang digunakan (Sharma *et al.*, 2011). Biosurfaktan yang dihasilkan dipengaruhi oleh jenis sumber karbon, pH, aerasi dan suhu. Penelitian yang telah dilakukan oleh Thavasi *et al.* (2007) menyatakan bahwa produksi biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Bacillus megaterium* optimum pada suhu 38 °C, pH 8 dan penambahan kadar salin 3% serta penambahan substrat minyak bumi sebesar 2% pada waktu optimum 120 jam menghasilkan biosurfaktan yang baik ditandai dengan aktivitas emulsifikasi (D_{610}) sebesar 1,72 serta uji *drop collapse* menunjukkan hasil positif. Yusnidar (2022) melaporkan produksi biosurfaktan pada bakteri indigen isolat ALP E1 dari air laut pelabuhan panjang dengan kondisi optimum sumber karbon minyak zaitun 10%, sumber nitrogen ammonium klorida 0,26%, pada pH 6 dan kadar salinitas 0,5% dapat menghasilkan biosurfaktan yang baik ditandai dengan Indeks Emulsifikasi (IE_{24}) sebesar 78,5%.

Biosurfaktan juga dilaporkan memiliki kemampuan sebagai agen yang dapat menekan pertumbuhan mikroba seperti antijamur dan antibakteri. Sari dkk. (2015) menyimpulkan biosurfaktan jenis *rhamnolipid* yang berasal dari bakteri lumpur minyak menunjukkan potensi untuk menekan keberadaan bakteri-bakteri patogen berupa *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus*. Yusnidar (2022) menyatakan biosurfaktan dari bakteri indigen isolat ALP E1 yang diduga merupakan jenis lipopeptida memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, serta jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus fumigatus*.

Studi terhadap isolat PKT D4 dengan kemampuannya menghasilkan biosurfaktan telah dilaporkan. Isolat PKT D4 yang berasal dari pengomposan limbah domestik telah diteliti lebih lanjut dengan mengkarakterisasi molekuler 16s-rRNA dihasilkan isolat ini termasuk ke dalam spesies bakteri *Leclercia* sp. Bakteri ini tumbuh optimal pada sumber karbon minyak zaitun 10%. Penelitian pendahuluan yang telah dilakukan juga telah mempelajari produksi biosurfaktan dengan kondisi optimum sumber karbon minyak zaitun 10%, sumber nitrogen urea 0,35%, pH 8, kadar salinitas 0,5% dan waktu inkubasi 72 jam (Cahyani, 2020 ; Rosi, 2022).

Hasil uji biosurfaktan dari bakteri ini menghasilkan nilai indeks emulsi (IE_{24}) 75,8%, uji *oil spreading* menunjukkan terbentuknya zona bening berdiameter 3,2 cm, dan uji *drop collapse* memberikan hasil positif dengan menghasilkan bentuk tetesan yang mendatar dan melebar. Biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri *leclercia* sp. PKT D4 memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida* sp., *C. Albicans*, *A. Fumigatus*, serta *A. flavus* dan diduga sebagai jenis *rhamnolipid* golongan glikolipid (Rosi, 2022). Namun dalam penelitian ini belum diteliti lebih lanjut jenis biosurfaktan yang diperoleh dan potensinya terhadap antimikroba yang lain.

Berdasarkan latar belakang diatas, pada penelitian ini dilakukan produksi, karakterisasi biosurfaktan dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4 dan uji bioaktivitasnya sebagai antimikroba. Karakterisasi biosurfaktan dilakukan melalui analisis menggunakan KLT dan FT-IR serta uji bioaktivitas sebagai antimikroba adapun mikroba uji adalah bakteri dan jamur.

1.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4.
2. Mengetahui karakteristik biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. PKT D4 melalui analisis KLT dan FTIR.
3. Mengetahui kemampuan biosurfaktan glikolipid sebagai antimikroba

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan jenis biosurfaktan glikolipid dari bakteri *Leclercia* sp. yang memiliki potensi bioaktivitas sebagai antimikroba yang dapat digunakan lebih lanjut dalam bidang farmasi serta biosurfaktan yang dikarakterisasi dapat menjadi acuan dalam mengembangkan aplikasi lainnya.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biosurfaktan

Biosurfaktan merupakan molekul aktif permukaan yang berasal dari sel-sel hidup dengan struktur yang terdiri dari gugus hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan. Mikroorganisme menghasilkan biosurfaktan sebagai produk ekstraseluler ataupun sebagai bagian dari membran sel (Satpute *et al.*, 2010). Biosurfaktan dapat diperoleh dari mikroorganisme prokariot maupun eukariot. Beberapa jenis mikroorganisme penghasil biosurfaktan, antara lain *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Streptococcus thermophilus* (Fukuoka *et al.*, 2007).

Keuntungan biosurfaktan dibandingkan surfaktan sintesis yaitu dapat didegradasi secara alami, mempunyai biokompatibilitas, umumnya memiliki toksisitas yang lebih rendah, dapat diproduksi dengan bahan baku yang murah, dapat digunakan dalam kontrol lingkungan, mempunyai spesifitas yang tinggi, serta efektif dalam suhu, pH, dan salinitas ekstrim sekalipun (Ciccyliona dan Nawfa, 2012).

2.2. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan

Proses produksi biosurfaktan dipengaruhi oleh jenis mikroba penghasil biosurfaktan, selain itu substrat pertumbuhan dan kondisi lingkungan termasuk pH, suhu, agitasi dan tingkat pengenceran juga dapat mempengaruhi produksi

biosurfaktan (Ulum, 2004). Berikut ini dijelaskan beberapa faktor yang mempengaruhi biosurfaktan.

2.2.1. Substrat Pertumbuhan

Pertumbuhan mikroba membutuhkan sedikit fosfor, sulfur, sumber karbon, nitrogen, hidrogen, dan oksigen. Menurut Hidayat dkk. (2006) medium kultur harus mengandung semua elemen yang dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroba. Sumber karbon dan nitrogen merupakan hal penting dalam substrat pertumbuhan. Sumber karbon yang biasa digunakan yaitu karbohidrat, hidrokarbon dan minyak sayuran. *Pseudomonas* dikenal sebagai bakteri yang dapat menghasilkan biosurfaktan rhamnolipid dengan tegangan permukaan yang potensial ketika ditumbuhkan pada sumber karbon yang berbeda (Rashedi *et al.*, 2006; Onbasli *and* Aslim, 2009).

Sumber nitrogen dapat menjadi faktor pembatas karena dibutuhkan dalam jumlah yang besar, keterbatasan jumlah nitrogen dapat mengubah komposisi biosurfaktan. Sumber nitrogen yang biasa digunakan yaitu ammonium nitrat (NH_4NO_3), urea, KNO_3 , NH_4Cl , NaNO_3 (Ruzniza, 2005). Garam amonium dan urea memberikan hasil yang baik dalam produksi biosurfaktan oleh *Arthrobacter paraffineus* (Alvionita dan Hertadi, 2021). Sumber nitrogen juga digunakan sebagai pengontrol pH dan medium.

2.2.2. Kondisi Lingkungan

Kondisi lingkungan seperti pH, temperatur, aerasi, agitasi dan ketersediaan oksigen dapat menjadi faktor yang mempengaruhi produksi biosurfaktan. Zinjarde *and* Pant (2002) menyatakan pengaruh pH awal dalam produk biosurfaktan oleh *Yarrowia lipolytica* optimum memproduksi biosurfaktan pada pH 8. Penelitian yang dilakukan oleh Riyanto dkk. (2021) menyimpulkan bahwa pH mempengaruhi produksi serta kemampuan biosurfaktan yang dihasilkan oleh *Serratia marcescens* strain MBC1 dalam melarutkan solar dengan pH paling

optimum yaitu pH 7. Ruzniza (2005) menyatakan pada kultur *batch* isolat AB-Cr1 optimum pada suhu 37 °C untuk memproduksi biosurfaktan terbanyak.

2.3. Jenis-Jenis Biosurfaktan

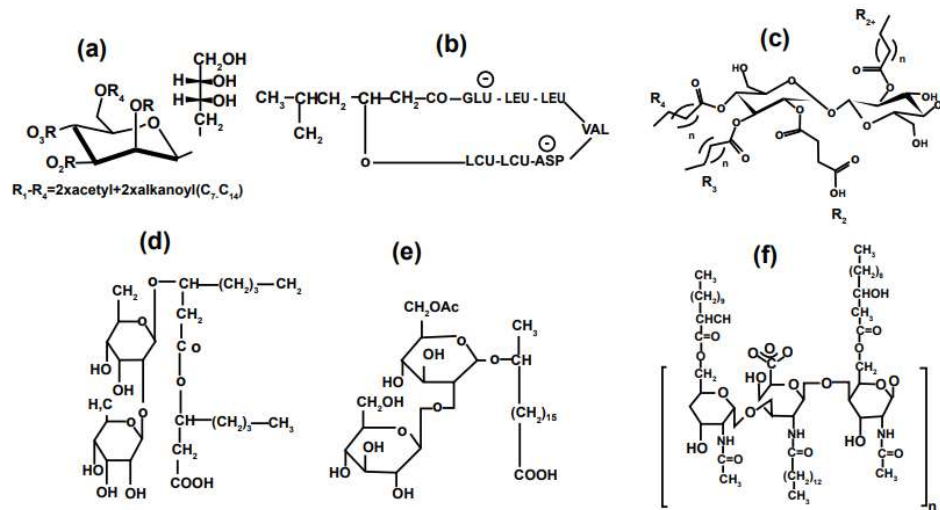
Jenis biosurfaktan dapat dikelompokkan berdasarkan jenis mikroba yang menghasilkan dan struktur molekulnya (Fakruddin, 2012). Setiap mikroba menghasilkan jenis biosurfaktan yang berbeda beda. Pengelompokkan biosurfaktan berdasarkan mikroba yang menghasilkannya dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Mikroba penghasil biosurfaktan dan jenis biosurfaktan yang dihasilkannya (Kosaric, 1992).

No.	Spesies Mikroba	Jenis Biosurfaktan
1.	<i>Torulopsis bombicola</i>	Glycolipid (sophorose lipid)
2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Glycolipid (rhamnose lipid)
3.	<i>Bacillus licheniformis</i>	Lipoprotein (surfactin)
4.	<i>Bacillus subtilis</i>	Lipoprotein (surfactin)
5.	<i>Pseudomonas</i> sp. DSM 2874	Glycolipids (rhamnose lipid)
6.	<i>Arthrobacter paraffineus</i>	Sucrose dan fructose glycolipids
7.	<i>Arthrobacter</i>	Glycolipids
8.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Rhamnose lipid
9.	<i>Pseudomonas</i> sp. MUB	Rhamnose lipid
10.	<i>Torulopsis petrophilurn</i>	Glycolipids dan Protein
11.	<i>Candida tropicalis</i>	Komplek Polysaccharide dan asam lemak Glycolipids

Selain berdasarkan mikroba yang menghasilkannya, jenis biosurfaktan dikelompokkan berdasarkan struktur molekulnya. Pengelompokkan biosurfaktan yang umum digunakan berdasarkan strukturnya berdasarkan Fakruddin (2012) yaitu mannosylerythritol lipid, surfaktin, trehalose lipid, sophorolipid,

rhamnolipid dan emulsan. Struktur biosurfaktan berdasarkan pengelompokan strukturnya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. (a) Mannosylerythritol lipid (b) Surfactin (c) Trehalose lipid (d) Rhamnolipid (e) Fosfolipid (f) Emulsan (Fakruddin, 2012).

2.4. Glikolipid

Biosurfaktan glikolipid merupakan senyawa gula yang berkaitan dengan asam alifatik rantai panjang (asam alifatik hidroksi). Biosurfaktan glikolipid memiliki potensi di bidang industri dan aplikasi lingkungan yang baik, seperti sebagai detoksifikasi cemaran logam di aliran sungai, kontrol limbah pembuangan minyak, dan bioremediasi tanah yang terkontaminasi (Mukherjee *et al.* 2006). Kitamoto *et al.* (2002) melaporkan bahwa biosurfaktan glikolipid dapat diaplikasikan dalam teknologi perlindungan lingkungan seperti membantu bioremediasi kontaminan hidrofobik, penghapusan logam berat dari tanah yang terkontaminasi seperti kadmium, timbal, seng atau tembaga. Biosurfaktan glikolipid memiliki beberapa jenis diantaranya sophorolipida, trehalolipida dan rhamnolipid, biosurfaktan yang paling banyak dipelajari dari kelompok glikolipid yaitu jenis rhamnolipid (Muliawati, 2005).

2.5. Rhamnolipid

Rhamnolipid merupakan jenis glikolipid, yang memiliki struktur berupa kelompok kepala glikosil dalam hal ini adalah bagian rhamnosa, dan 3-(hydroxyalkanoyloxy) asam alkanoat kelompok ekor asam lemak. Keunggulan rhamnolipid yaitu merupakan jenis biosurfaktan glikolipid yang paling banyak dipelajari, mampu membentuk mikroemulsi antara bahan yang berbeda fasenya. Pemanfaatan rhamnolipid meliputi beberapa bidang diantaranya bioremediasi senyawa terhadap tanah dan air yang terkontaminasi dan pengendali hama tanaman pangan (Vatsa *et al.*, 2010).

Rhamnolipid bersifat anionik dan memiliki gugus karbonil dan hidroksil yang berpotensi untuk dapat dipertukarkan dengan kation sehingga dapat digunakan untuk menyerap logam berat. Berdasarkan penelitian dari Nugroho (2008) rhamnolipid efektif untuk memisahkan logam berat Cd dari tanah sebesar 8-54% dengan mekanismenya yaitu pada suhu rendah, biosurfaktan berbentuk monomer, sedangkan pada suhu tinggi biosurfaktan dapat membentuk kompleks yaitu misel. Misel biosurfaktan membantu menghilangkan ion logam dari permukaan tanah dan memindahkan ke dalam larutan.

2.6. *Leclercia* sp.

Leclercia sp. pertama kali diamati dan ditemukan oleh seorang ahli bakteriologi asal Prancis H. Leclerc pada tahun 1962. Bakteri ini ditemukan pada sampel perut pasien kanker lambung wanita (Xu *et al.*, 2020), dan usus cacing tanah (Barman *et al.*, 2022). Bakteri ini merupakan suatu bakteri gram negatif dan berbentuk basil dari famili *Enterobacteriaceae*. Berikut merupakan klasifikasi dari bakteri *Leclercia* sp. :

Kingdom : *Bacteria*
 Phylum : *Proteobacteria*
 Class : *Gamaproteobacteria*
 Ordo : *Enterobacteriales*

Family : *Enterobacteriaceae*
Genus : *Leclercia*
Spesies : *Leclercia* sp.

Isolat PKT D4 yang berasal dari pengomposan limbah domestik telah diteliti lebih lanjut dengan mengkarakterisasi molekuler 16s-rRNA dihasilkan isolat ini termasuk ke dalam spesies *Leclercia* sp. Isolat ini merupakan bakteri proteolitik, yaitu bakteri yang mampu menghasilkan enzim protease dengan indeks proteolitik sebesar 1,64 dan aktivitas unit yang dihasilkan yaitu 0,351 U/mL. Memiliki bentuk koloni rhizoid (seperti akar/pertumbuhan menyebar) termasuk ke dalam mikroorganisme termofilik yaitu mikroorganisme yang dapat hidup pada temperatur 45-80 °C dan mengandung protein tahan panas dan tahan denaturasi sehingga dapat beradaptasi pada pH dan suhu ekstrim (Hijrianto, 2019). Isolat PKT D4 telah dipelajari memiliki kemampuan memproduksi biosurfaktan dengan baik dengan menggunakan sumber karbon minyak zaitun 10% dan sumber nitrogen urea 0,35%, pada pH 8, kadar salinitas 0,5% dengan waktu inkubasi 72 jam, termasuk golongan glikolipid dan mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida* sp., *C. Albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* (Rosi, 2022).

2.7. Uji Senyawa Biosurfaktan

Uji senyawa biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan biosurfaktan yang didapatkan. Beberapa uji yang dilakukan diantaranya uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse*.

2.7.1. Uji Emulsifikasi

Uji emulsifikasi bertujuan untuk menentukan kemampuan bakteri dalam menghasilkan biosurfaktan. Uji ini merupakan proses pencampuran antara dua buah fase cair yang tidak dapat bercampur dengan bantuan agen emulsifikasi (biosurfaktan) (Bicca *et al.*, 1999). Prinsip uji ini yaitu perbandingan tinggi minyak yang teremulsi di dalam air dengan tinggi campuran minyak dan air.

Emulsi terjadi karena biosurfaktan mampu menggabungkan senyawa polar dengan senyawa campuran (Setiani dkk., 2020). Indeks emulsi (%) dapat dihitung dengan menggunakan rumus pada Persamaan 1 (Pereira *et al.*, 2013).

$$\text{Indeks emulsi (\%)} = \frac{\text{tinggi lapisan teremulsi (cm)}}{\text{tinggi total cairan dalam tabung}} \times 100\% \quad (1)$$

2.7.2. Uji *Oil Spreading*

Uji *oil spreading* dilakukan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dengan melihat kemampuan menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air dengan prinsip penurunan tegangan permukaan antara fasa air dan minyak. Uji positif dapat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening akibat penyisihan lapisan oli oleh biosurfaktan (Shah *et al.*, 2016).

2.7.3. Uji *Drop Collapse*

Uji *drop collapse* dilakukan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan. Prinsip uji ini yaitu tetesan oli yang sebelumnya berbentuk cembung menjadi mendatar ketika ditetesi oleh biosurfaktan. Uji ini menjadi salah satu cara yang mudah dilakukan karena hanya membutuhkan volume larutan biosurfaktan yang sedikit untuk menguji sifat biosurfaktan (Shokouhfard *et al.*, 2015).

2.8. Ekstraksi Biosurfaktan

Biosurfaktan merupakan lipid yang mengandung molekul amphipatik dan dapat diekstraksi dengan pelarut organik. Ekstraksi bertujuan untuk memisahkan lipid seluler atau cairan dari konstituen lain seperti protein, polisakarida, dan molekul kecil. Ekstraksi biosurfaktan dapat dilakukan dengan cara mengendapkan supernatan HCl 6N sampai dengan pH 2 dan diinkubasi di lemari dingin pada suhu 4 °C selama semalam hingga didapat fase filtrate dan endapan. Kedua fase

tersebut kemudian dipisahkan dan di *freeze drying*, dengan hasil yang didapatkan dari fase endapan merupakan produk kasar biosurfaktan (Nitschke *et al.*, 2004).

Selain itu, ekstraksi biosurfaktan dapat menggunakan pengendapan aseton yang dilakukan dengan cara mengambil 50 mL supernatan kultur, kemudian diekstrak dengan aseton dengan perbandingan 1:1 dan diinkubasi semalam pada suhu 4 °C, setelah diperoleh endapan kemudian diliofilisasi (Sasongko, 2003).

2.9. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

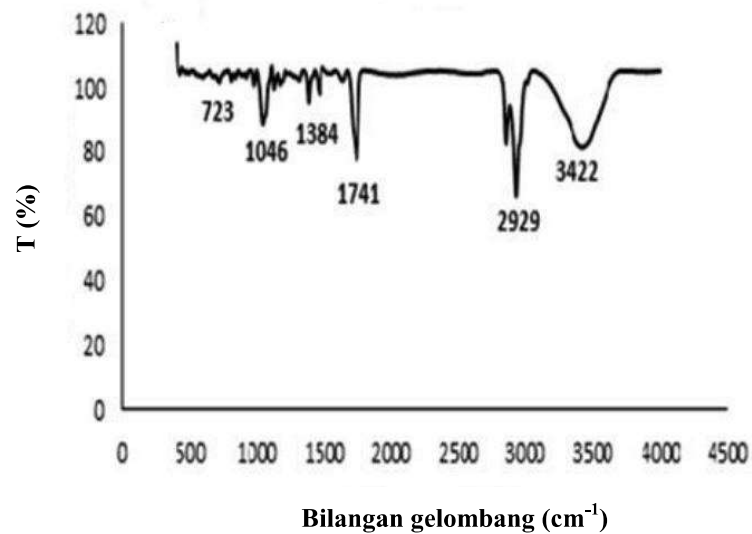
Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan komponen dalam suatu sampel dimana komponen tersebut didistribusikan diantara dua fasa yaitu fasa gerak dan fasa diam. Kromatografi lapis tipis adalah bentuk kromatografi planar, selain kromatografi kertas dan kromatografi elektroforesis. Fase gerak merupakan medium angkut yang terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Pelarut yang digunakan sebagai fase gerak hanyalah pelarut bertingkat mutu analitik dan bila diperlukan sistem pelarut multi komponen ini harus berupa suatu campuran komponen yang sederhana, maksimum terdiri dari 3 komponen. Fasa diam adalah fasa yang menahan cuplikan secara efektif, pada KLT fasa diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, lempeng aluminium atau lempeng plastik (Nyireddy, 2002 ; Gandjar dan Rohman, 2012).

Menurut Wulandari (2011) tahapan metode analisis KLT diawali dengan preparasi sampel dengan menentukan jenis sampel dan sifat fisika kimia analit yang akan dianalisis. Setelah itu dilakukan pemotongan lempeng, pencucian lempeng, aktivasi lempeng, pengkondisian lempeng dan impregnasi lempeng, selanjutnya dilakukan penanganan eluen, penanganan *chamber* dan elusi (pengembangan) KLT dan terakhir dilakukan evaluasi noda yang dilakukan dengan menggunakan cahaya matahari, atau dapat dibantu dengan menggunakan lampu UV yang memberikan pencahayaan pada panjang gelombang tertentu.

Ekstrak fraksi biosurfaktan dianalisis identitas kimiawinya menggunakan pelat kromatografi lapis tipis (KLT) dalam permukaan silika gel dengan campuran pelarut berupa kloroform, methanol dan air. Hasil spot yang terbentuk divisualisasikan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm kemudian disemprotkan dengan reagen molisch, pembentukkan bercak merah menunjukkan ekstrak bakteri positif mengandung senyawa glikolipid biosurfaktan (Ibrahim, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Sari dkk. (2015) yang menggunakan biosurfaktan dari bakteri *Bacillus circulans* menunjukkan adanya respon positif spot kuning kehijauan dengan pewarna spesifik antron.

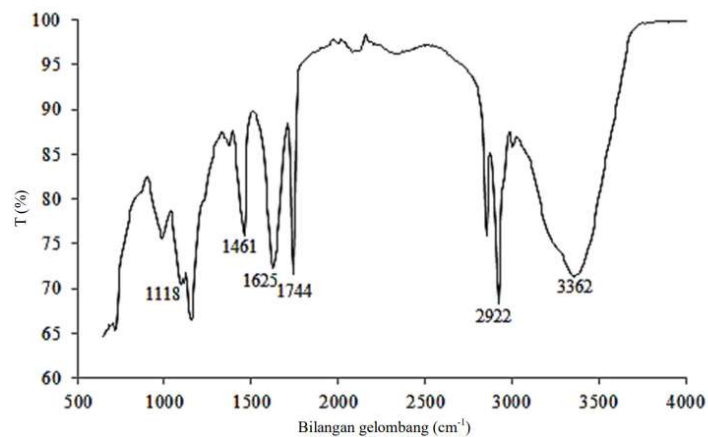
2.10. *Fourier Transform Infra Red (FT-IR)*

Fourier Transform Infra Red (FT-IR) adalah salah satu teknik analitik yang baik dalam mengidentifikasi struktur molekul suatu senyawa. Spektrum *Infra Red (IR)* digunakan untuk melihat gugus-gugus fungsi dalam sebuah molekul yang diperoleh dengan menembakkan radiasi sinar infra merah ke sampel dalam menentukan fraksi apa yang terjadi saat melawan radiasi yang teradsorpsi dengan energi khusus. Penelitian oleh Rath *et al.* (2016) telah mengkarakterisasi biosurfaktan dari bakteri *Pseudomonas. Aeruginosa* SMVIT 1 yang diisolasi dari tanah yang tercemar minyak menggunakan FT-IR, diperoleh puncak pada 3421,84 cm^{-1} yang menunjukkan adanya O-H *stretching*. Antara 2856,55 cm^{-1} sampai 2928,66 cm^{-1} dapat diamati adanya *symmetric stretch (CH)* dari kelompok CH_2 dan CH_3 rantai alifatik. Penyerapan disekitar 1741,14 cm^{-1} dan 1636,57 cm^{-1} menunjukkan ester (C=O) dan karbonil (COO-). Puncak 1045,88 cm^{-1} menunjukkan keberadaan polisakarida atau substansi mirip polisakarida di dalam biosurfaktan. Puncak penyerapan diantara 1124,54 cm^{-1} dan 1045,88 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi C-O-C (cincin *rhamnose*). Sedangkan puncak pada 694 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan kelompok CH_2 . Berdasarkan data tersebut dapat disimpulkan strain *P. Aeruginosa* SMVIT 1 memproduksi biosurfaktan dengan kategori glikolipid yaitu *rhamnolipid*. Spektra FT-IR strain *P. aeruginosa* SMVIT 1 dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra FT-IR strain *P. Aeruginosa* SMVIT 1 (Rath *et al.*, 2016).

Studi awal yang telah dilakukan terhadap biosurfaktan dari isolat bakteri PKT D4 oleh Rosi (2022) merupakan jenis biosurfaktan glikolipid jenis rhamnolipid berdasarkan spektra FTIR yang menunjukkan puncak 3362 cm^{-1} yang menunjukkan ada O-H *stretching* (kelompok hidroksil bebas dari cincin *rhamnose*). Pada 2922 cm^{-1} dapat diamati *symmetric stretch* (CH) dari kelompok CH_2 dan CH_3 rantai alifatik. Penyerapan disekitar 1744 cm^{-1} dan 1625 cm^{-1} menunjukkan ester (C=O) dan karbonil (COO-) *acid*. Puncak penyerapan pada 1118 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi C-O-C (cincin *rhamnose*). Spektra FTIR sampel biosurfaktan dari bakteri lokal isolat PKT D4 dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Spektra FTIR sampel biosurfaktan dari bakteri lokal isolat PKT D4 (Rosi, 2022).

2.11. Antimikroba

Antimikroba merupakan suatu zat-zat kimia yang diperoleh/dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme, zat tersebut memiliki daya hambat aktivitas mikroorganisme lain meskipun dalam jumlah sedikit. Beberapa sifat yang perlu dimiliki oleh zat antimikroba diantaranya menghambat atau membunuh mikroba patogen tanpa merusak hospes/inang, tidak menyebabkan resistensi pada kuman atau mikroba, dapat larut dalam air dan stabil (Waluyo, 2004). Antimikroba meliputi antibakteri dan antijamur.

2.11.1. Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan dapat membunuh bakteri patogen (Paju dkk., 2013). Menurut Pelczar dan Chan (2005) senyawa bioaktif dapat digunakan sebagai antibakteri, sehingga dapat mengurangi keracunan pangan akibat patogen. Bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia. Beberapa bakteri patogen yang sering dijumpai dalam bahan pangan yaitu *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* juga dapat menyebabkan infeksi pada manusia (Djide dan Sartini, 2008).

Metode yang umumnya digunakan dalam antibakteri yaitu difusi cakram. Metode ini dilakukan dengan cara zat antimikroba diberikan pada media pembenihan yang telah diinokulasi oleh bakteri, setelah diinkubasi selama 24-48 jam, kemudian diukur zona bening disekitar zat antimikroba yang diinterpretasikan sebagai hambatan suatu sampel terhadap pertumbuhan bakteri. Beberapa penelitian menunjukkan biosurfaktan memiliki hasil yang positif terhadap antibakteri. Velmurugan *et al.* (2015) menyatakan biosurfaktan golongan glikolipid jenis lipolipid yang berasal dari bakteri *Pseudomonas* sp. memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif *Staphylococcus*

aureus ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening berukuran 10 mm dan pada bakteri gram negatif yaitu *Escherichia coli* dengan zona bening sebesar 11 mm Setiani dkk. (2020) menyimpulkan bahwa biosurfaktan yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*S.aureus*) dan gram negatif (*E.coli*) dengan terbentuknya zona bening pada kertas cakram.

2.11.2. Antijamur

Antijamur merupakan bagian antibiotik yang membunuh atau memperlambat pertumbuhan jamur dan termasuk golongan obat yang bersifat fungisida atau fungistatik yang dapat digunakan untuk mengobati mikosis (Jawetz *et al.* 2001). Penelitian mengenai biosurfaktan sebagai antijamur yang dilakukan oleh Nawaz *et al.* (2018) dengan menggunakan biosurfaktan dari *B. Licheniformis* OE-04 terhadap jamur *C. Gossypii* dan memberikan zona hambat 29.13 ± 1.35 mm. Yusnidar (2022) menyatakan biosurfaktan jenis lipopeptida yang berasal dari bakteri indigen isolat ALP E1 memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus fumigatus*. Rosi (2022) melaporkan bakteri lokal isolat PKT D4 memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida sp.*, *C. Albicans*, *A. Fumigatus*, dan *A. flavus*.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April-Desember 2022 di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, Analisis karakterisasi Biosurfaktan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan FT-IR dilakukan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT) Universitas Lampung serta Uji Antimikroba yang dilakukan di Balai Veteriner Lampung.

3.2. Alat-Alat yang digunakan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah, spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*), gelas kimia, Erlenmeyer, cawan petri, tabung sentrifugasi, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *chamber*, plat KLT, pipet tetes, *freezdryer* model *Scanvac Cool Safe Labogene*, *autoclave* model S-90N, *shaker* model Stuart SSL2, *incubator* model *Precistern P' selecta*, *laminar air flow* (LAF) Curma model 9005-FL, jarum ose, neraca analitik, *aluminium foil*, sentrifuga model 225 *Fisher Scientific*, indikator pH, *vortex* model *Grant Bio PV-1*, *hotplate stirer* model Stuart CB162, bunsen, spatula, oven model T60 *Heraeus*, gelas ukur, labu ukur, jangka sorong model Mitutoyo CD-6, dan mikropipet model *Dragonlab*.

3.3. Bahan-bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri lokal isolat PKT D4, *S.aureus*, *E.coli*, *A.fumigatus*, *C.albicans* dan *A. Fumigatus* yang tersedia di Balai Veteriner, minyak zaitun, kapas, kasa, kertas cakram, *nutrient agar*, *nutrient broth*, KBr, akuades, kloroform, methanol, benzena, urea, media *Muller Hinton Agar* (MHA), *Sabour dextrose Agar* (SDA), *Chloramphenicol* (Tjay dan Rahardja, 2007), *Citrofloxacin* (Das *et al.*, 2008) dan *Mineral Salt Medium* (MSM) antara lain; Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , HCl, NaOH, KH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, *yeast extract*, dan glukosa.

3.4. Metode Penelitian

3.4.1. Tahap Persiapan

Pada tahap ini dilakukan preparasi alat dan bahan yang akan digunakan. Peralatan yang akan digunakan disterilisasi terlebih dahulu untuk menghindari kontaminan yang tidak diinginkan. Sterilisasi dilakukan adapun menggunakan *autoclave* dengan cara disiapkan terlebih dahulu alat alat yang akan digunakan, dicuci, dikeringkan lalu dibungkus dengan kertas hingga menutupi seluruh permukaan alat. Kemudian alat-alat tersebut dimasukkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah dingin, alat-alat dikeringkan dan siap digunakan.

3.4.2. Pembuatan Media

3.4.2.1. Media Nutrient Agar (NA)

Media *Nutrient Agar* digunakan untuk meremajakan isolat bakteri. Media ini dibuat dengan cara 2,8 g *nutrient agar* dilarutkan dalam 100 mL akuades dan dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditutup

dengan sumbat. Selanjutnya media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah proses sterilisasi selesai tabung reaksi yang berisi media diletakan dalam posisi miring hingga memadat dan siap digunakan.

3.4.2.2. Media Nutrient Broth (NB)

Media *nutrient broth* merupakan media yang digunakan sebagai media inokulum atau adaptasi bakteri. Media ini dibuat dengan cara 0,2667 g *nutrient broth* dilarutkan dalam 20 mL akuades lalu dipanaskan hingga mendidih. Kemudian ditutup dengan sumbat dan media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah selesai, media disimpan pada suhu ruang dan di dalam *laminar air flow* serta siap digunakan.

3.4.2.3. Mineral Salt Medium (MSM)

MSM merupakan media selektif untuk pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan. Media ini dibuat dengan cara masing masing bahan: 0.2 g KH_2PO_4 , 0.5 g K_2HPO_4 , 0.3 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0.01 g NaCl , 0.001 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.02 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.001 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0.0002 g $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.03 g *yeast extract*, dan 0.03 g glukosa ditimbang dan dilarutkan dengan 100 mL akuades steril kemudian dihomogenkan dengan *stirrer*. Kemudian media dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditutup dengan sumbat lalu disterilkan dalam *autoclave* pada temperatur 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, media disimpan dalam *laminar air flow* dan siap digunakan.

3.4.3. Peremajaan Bakteri Lokal PKT D4

Peremajaan bakteri dilakukan untuk menjaga nutrisi isolate bakteri yang digunakan sebagai stok kultur yaitu bakteri lokal isolat PKT D4 sebagai penghasil

biosurfaktan. Peremajaan ini dilakukan pada media *nutrient agar* miring. Sebanyak 1 ose bakteri lokal isolat PKT D4 diinokulasikan ke permukaan media secara zig-zag. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Setelah itu biakan hasil peremajaan siap digunakan dan disimpan di dalam lemari pendingin 4°C (Kalyani *et al.*, 2014).

3.4.4. Produksi Biosurfaktan

Produksi biosurfaktan bertujuan untuk mendapatkan biosurfaktan dari bakteri lokal isolate PKT D4 yang dilakukan sesuai dengan hasil yang telah didapatkan pada peneliti pendahulu yaitu sebanyak 1000 µL bakteri lokal PKT D4 ditumbuhkan dalam media MSM 100 mL yang mengandung sumber nitrogen optimum urea 0,35% dan sumber karbon minyak zaitun 10%, pada pH 8, kadar salinitas 0,5% dengan waktu inkubasi 72 jam (Cahyani, 2020; Rosi, 2022). Kemudian kultur bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 30°C menggunakan *shaker incubator* pada kecepatan 110 rpm. Setelah itu kultur disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit lalu supernatan yang diperoleh dilakukan uji emulsifikasi, uji *drop collapse*, dan uji *oil spreading* (Francy *et al.*, 1991) serta digunakan untuk tahap ekstraksi.

3.4.4.1. Uji Emulsifikasi

Uji emulsifikasi adalah uji yang digunakan untuk mengetahui bakteri yang memiliki aktivitas biosurfaktan. Prinsip uji ini yaitu perbandingan tinggi minyak yang teremulsi di dalam air dengan tinggi campuran minyak dan air. Emulsi yang terjadi karena kemampuan biosurfaktan yang mampu menggabungkan senyawa polar dengan senyawa campuran (Setiani dkk., 2020). Uji ini dilakukan dengan cara sebanyak 2 mL supernatan yang telah didapat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan benzena sebagai substrat non-polar pembentuk emulsi. Akuades digunakan sebagai kontrol negatif. Campuran tersebut kemudian divorteks dengan kecepatan tinggi selama 2 menit kemudian didiamkan

pada suhu ruang selama 24 jam dan diukur tingkat emulsinya (Pereira *et al.*, 2013). Nilai Indeks Emulsifikasi (IE_{24}) dapat dihitung dengan persamaan (1).

3.4.4.2. Uji *Oil Spreading*

Uji *oil spreading* dilakukan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dengan melihat kemampuan menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air dengan prinsip penurunan tegangan permukaan antara fasa air dan minyak. Uji ini dilakukan dengan cara sebanyak 30 mL akuades dimasukkan ke dalam cawan petri bersih pada tempat yang datar, kemudian ditambahkan 1 mL oli bekas. Setelah itu, dimasukkan perlahan 20 μ L supernatan kultur pada tengah lapisan oli bekas. Kontrol negatif menggunakan akuades. Uji positif dapat ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening akibat penyisihan lapisan oli oleh biosurfaktan (Shah *et al.*, 2016).

3.4.4.3. Uji *Drop Collapse*

Uji *drop collapse* dilakukan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dalam menurunkan tegangan permukaan. Prinsip uji ini yaitu mendatarnya permukaan oli ketika ditetesi oleh biosurfaktan. Uji ini dilakukan dengan meneteskan 20 μ L oli bekas pada permukaan kaca bersih dan didiamkan selama 1 jam agar stabil. Selanjutnya, di atas tetesan oli ditetaskan supernatan sebanyak 10 μ L. Kontrol negatif menggunakan akuades. Tetesan supernatan akan berbentuk datar ketika mengandung biosurfaktan (Bodour *and* Miller, 1998).

3.4.5. Ekstraksi Biosurfaktan

Ekstraksi biosurfaktan dilakukan dengan menggunakan metode presipitasi asam. Supernatan yang dihasilkan dari tahap produksi di sentrifugasi pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit untuk memperoleh supernatan bebas sel. Supernatan yang terbentuk ditambahkan HCL 6 N hingga pH 2 kemudian

didiamkan pada suhu 4 °C selama 24 jam. Supernatan kemudian di sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 20 menit (Nitsckhe *et al.*, 2004). Pellet yang dihasilkan oleh sentrifugasi kemudian dilakukan *freeze drying* yang bertujuan untuk memisahkan biosurfaktan murni dari sisa minyak yang masih menempel. Biosurfaktan kemudian ditimbang untuk digunakan pada uji selanjutnya.

3.4.6. Analisis Biosurfaktan

3.4.6.1. Analisis Menggunakan KLT

Analisis menggunakan KLT dilakukan pada tahap uji biosurfaktan setelah produksi dan setelah ekstraksi. Sampel dilarutkan dengan metanol kemudian dianalisis identitas kimiawinya menggunakan plat KLT. Plat KLT kemudian dimasukkan ke dalam *chamber* yang berisi eluen yang terdiri kloroform, methanol, dan asam asetat (65:15:2 v:v:v). Hasil spot yang terbentuk divisualisasikan di bawah sinar UV (254 nm) kemudian disemprotkan dengan reagen molisch. Uji positif bakteri mengandung senyawa glikolipid ditunjukkan dengan terbentuknya bercak merah (Ibrahim, 2018).

3.4.6.2. Analisis menggunakan FT-IR

Analisis menggunakan FT-IR dilakukan dengan cara sampel biosurfaktan dicampur dengan KBr murni, selanjutnya campuran dimasukkan ke dalam cetakan pellet yang kemudian ditekan menggunakan Press hidrolis. Selanjutnya sampel dikeluarkan dari cetakan dan dianalisis menggunakan FT-IR (Pavan *and* Andrew, 2021).

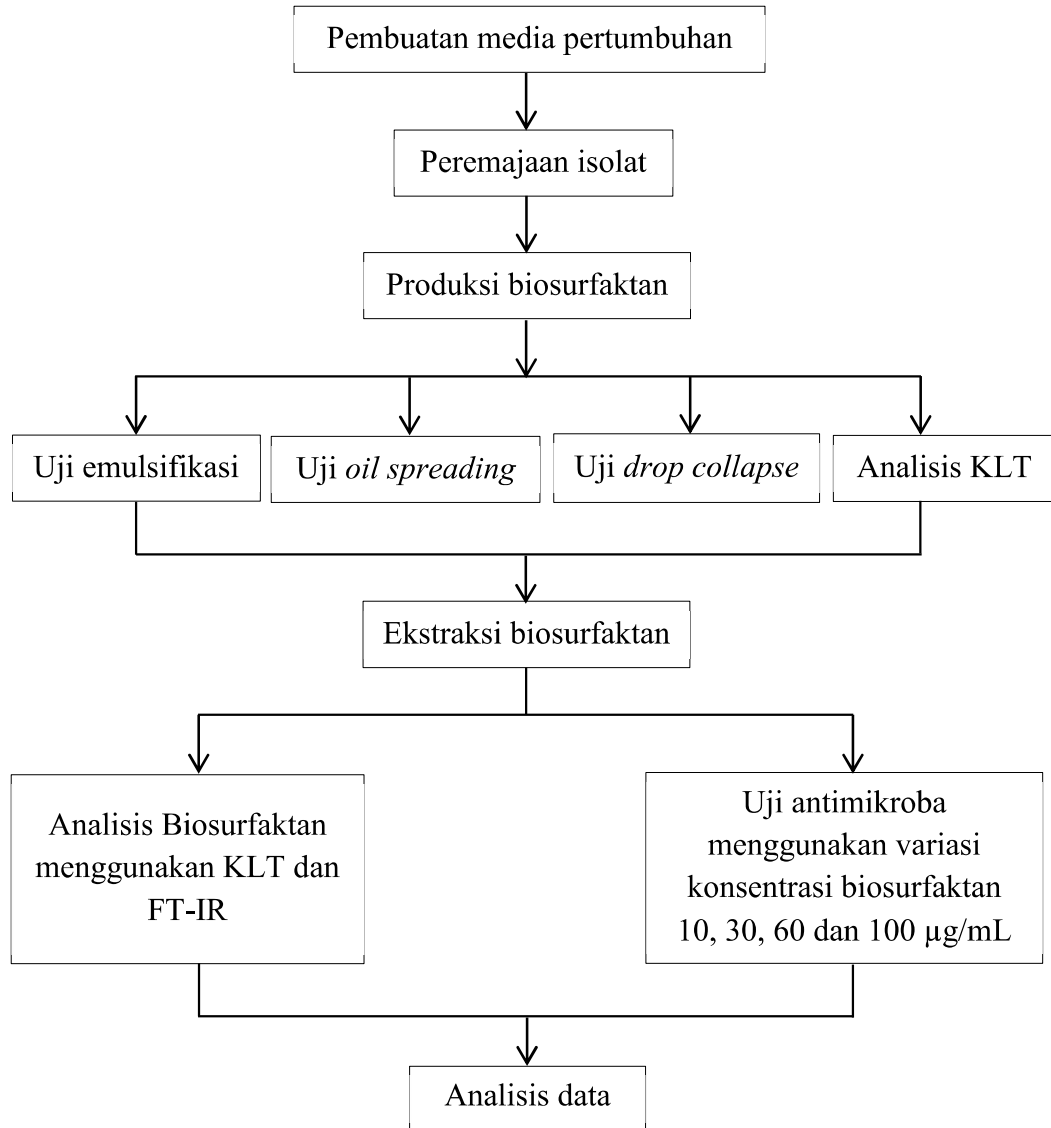
3.4.7. Uji Biosurfaktan Sebagai Antimikroba

3.4.7.1. Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan cara suspensi bakteri uji (*S. aureus* dan *E. coli*) sebanyak 0.2 mL diinokulasikan ke dalam media *Muller Hinton Agar* (MHA) yang telah dibuat sebelumnya, kemudian diratakan diatas permukaan media menggunakan batang L. Kertas cakram yang telah dicelupkan biosurfaktan dengan variasi konsentrasi 10, 30, dan 60 $\mu\text{g/mL}$ diletakkan diatas lapisan agar. Kontrol positif menggunakan *Chloramphenicol* (Tjay dan Rahardja, 2007) diuji terhadap bakteri gram positif *S. aureus* dan *Ciprofloxacin* (Das *et al.*, 2008) diuji terhadap bakteri gram negatif *E. coli* dan kontrol negatif menggunakan metanol. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengukuran zona hambat di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong.

3.4.7.2. Uji Antijamur

Uji aktivitas antijamur dilakukan terhadap biosurfaktan yang dihasilkan dari tahap ekstraksi. Suspensi jamur sebanyak 0,2 mL yang telah diinokulasikan ke dalam media SDA, diratakan menggunakan *spreader*. Kertas cakram yang telah dicelupkan biosurfaktan dengan variasi konsentrasi 10, 30 dan 60 $\mu\text{g/mL}$ di letakkan diatas lapisan agar. Kontrol positif menggunakan nystatin 30 $\mu\text{g/mL}$ (Rantekata, 2018). Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengukuran zona hambat disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong. Adapun diagram alir berdasarkan penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Diagram alir penelitian .

DAFTAR PUSTAKA

- Alvionita, M., dan Hertadi, R. 2021. Pengaruh Jenis Sumber Nitrogen Pada Produksi Biosurfaktan Oleh Bakteri Halofil. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)*. 4(1):11–17.
- Barman, P., Mondal, N., Sen, S., Chatterjee, S., Sinha, S., Ghosh, W., Chakraborty, R. 2022. Draft Genome Sequences from Two Gram-Negative Bacteria, *Serratia* sp. Strain EWG9 and *Leclercia* sp. Strain EMC7, isolated from the Earthworm *Eisenia fetida*. *American Society for Microbiology*. 11(2):1-3.
- Bicca, F. C., Fleck, L. C., and Ayub, M. A. Z. 1999. Production of Biosurfactant by Hydrocarbon Degrading *Rhodococcus ruber* and *Rhodococcus erythropolis*. *Revista de Microbiologia*. 30(3):231–236.
- Bodour, A.A., and Miller-Maier, R.M. 1998. Application of a Modified Drop Collapsing Test Technique for Surfactant Quantitation and Screening of Biosurfactant Producing Microorganism. *Journal of Microbiology*. 32: 273-280.
- Cahyani, V. D. 2020. *Seleksi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Dari Mikroba Indigen Dan Optimasi Produksi Pada Sumber Karbon Yang Berbeda (Skripsi)*. Universitas Lampung. Lampung.
- Chen, Y., Zou, C., Mastalerz, M., Hu, S., Gasaway, C., and Tao, X. 2015. Applications of Micro-Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) in the Geological Sciences-a Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 16: 30223–30250.
- Ciccyliana, D.Y. dan Nawfa, R. 2012. Pengaruh pH Terhadap Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Lokal. *Jurnal Sains dan Seni Pomits*. 1: 1-6.
- Das, P., Mukherjee, S., Sen, R. 2008. Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. *Journal Appl Microbiol* 104: 1675-1684.

- Deepika, K.V., Sridhar, P.R., Bramhachari, P.V. 2015. Characterization and antifungal properties of rhamnolipid produced by mangrove sediment bacterium *Pseudomonas aeruginosa* strain KVD-HM52. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 4(4):608-615.
- Djide dan Sartini. 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Farmasi*. Lepas. Makasar.
- Fakruddin, M. 2012. Biosurfactant : Production and Application. *Journal of Petroleum & Environmental Biotechnology*. 3(4): 1-5.
- Francy, D. S., Thomas, J. M., Raymond, R. L., and Ward, C. H. 1991. Emulsification of Hydrocarbons by Subsurface Bacteria. *Journal Ind Microbiol*. 8:237-246.
- Fukuoka T, Morita T, Konishi M, Imura T, and Kitamoto D. 2007. Characterization of new type of mannosylerythritol lipids as biosurfactants produced from soybean oil by a *Basidiomycetous* Yeast, *Pseudozyma shanxiensis*. *J Oleo Sci* 8: 435-442.
- Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2012. *Analisis Obat secara Spektroskopi dan Kromatografi*. 70-72. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Gozan, M., I. N. Fatimah., C. Nanda dan A. Haris. 2014. Produksi Biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi. *Journal of Agrobased Industry*. 31(2): 39-44.
- Hidayat, N., Padaga, M.C. dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. ANDI. Yogyakarta.
- Hijrianto, L. 2019. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Proteolitik Pada Proses Pengomposan Limbah Domestik (Skripsi)*. Universitas Lampung. Lampung.
- Ibrahim, H.M.M. 2018. Characterization of biosurfactants produced by novel strains of *Ochrobactrum anthropi* HM-1 and *Citrobacter freundii* HM-2 from used engine oil-contaminated soil. *Egyptian Journal of Petroleum*. 27(2018):21-29.
- Indrianti, W. 2022. *Produksi Biosurfaktan Dari Bakteri Isolat Lokal BSPP-4 Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang Dan Uji Potensi Antibakteri (Skripsi)*. Universitas Lampung. Lampung.
- Jawetz, Z.E., Joseph M.E.A.A., Delberg. 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan oleh Eddy Mudihardi, dkk. Bagian Mikrobiologi Fak. Kedokteran Universitas Airlangga. Salemba Medika. Jakarta.

- Kalyani, A. L. T., Naga. S. G., Aditya, A. K. G., and Girija, S. G. 2014. Isolation and Antimicrobial Activity of Rhamnolipid (Biosurfactant) From Oil Contaminated Soil Sample using Humic-Acid Salts-Vitamin Agar. *International Journal of Research in Engineering and Technology*. 03(05):357–65.
- Khayam, M. 2014. *Peluang bisnis dari surfaktan & polymer*. Diakses pada 15 Mei 2022, dari <https://industri.kontan.co.id/news/peluang-bisnis-dari-surfaktan-polymer>.
- Kitamoto, D., Isoda, H., and Nakahara, T. 2002. Functions and Potential Applications of Glycolipid Biosurfactants-from energy saving Materials to Gene Delivery Carriers. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 94(3): 187-201.
- Kosaric, N. 1992. Biosurfactants in Industry. *Pure & Appl. Chern*. 64(11): 1731-1737.
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla, A., Parades, A., Loyola, L.A., Gallardo, O., and Borquez, J. 2003. Secondary Metabolites From Four Medicinal Plants From Northern Chile: Antimicrobial Activity And Biototoxicity Against *Artemia Salina* . *J. Chil. Chem. Soc*. 48(2):1-3.
- Mukherjee S, Das P, Sen R. 2006. A review Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends Biotechnol*. 24: 509-515.
- Muliawati, E. 2005. *Sintesis Biosurfaktan dengan Menggunakan Minyak Kedelai sebagai Sumber Karbon Tambahan Secara Biotransformasi oleh Pseudomonas aeruginosa (Skripsi)*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Nawaz, H. H., Rajaofera, M. J. N., He, Q., Anam, U., Lin, C., and Miao, W. 2018. Evaluation of Antifungal Metabolites Activity from *Bacillus Licheniformis* OE-04 against *Colletotrichum Gossypii*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 146:33–42.
- Nitschke, M., Ferraz, C., and Pastore, G. M. 2004. Selection of Microorganisms for Biosurfactant Production Using Agroindustrial Wastes. *Journal of Microbiology*. 35: 81-85.
- Nugroho, S. 2008. *Penggunaan Biosurfaktan yang Diimobilisasikan pada Alofan Sebagai Adsorben Ion Logam Cd (Skripsi)*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Nyiredy, S. 2002. Planar chromatographic method development using the prisma optimization system and flow charts. *J Chromatogr Sci*. 40:1-10.

- Onbasli, D. and Aslim, B. 2009. Biosurfactant production in sugar beet molasses by some *Pseudomonas* spp. *J Environ Biol.*30(1):161-3.
- Paju, N., Yamlean, PV., Kojong, N. 2013. Uji Efektivitas Salep Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia Steenis.*) pada Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*) yang Terinfeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Pharmacon* 2(1):51–61.
- Patowary, K., Patowary, R., Kalita, M.C., and Deka, S. 2017. Characterization of Biosurfactant Produced during Degradation of Hydrocarbons Using Crude Oil As Sole Source of Carbon. *Frontiers in Microbiology.* 8(279):1-14.
- Pavan, M. V., and Andrew, R. B. 2021. *IR Spectroscopy: Chemistry LibreTexts*. Rice University. Texas.
- Pelczar, M. J dan Chan, E. C. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi: Jilid 2*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Pereira, J. F. B., Gudiña, E. J., Costa, R., Vitorino, R., Teixeira, J. A., Coutinho, J. A. P., and Rodrigues, L. R. 2013. Optimization and Characterization of Biosurfactant Production by *Bacillus Subtilis* Isolates towards Microbial Enhanced Oil Recovery Applications. *Fuel.* 111:259–68.
- Pradnya, B., and Unnati, P. 2015. In Vitro Antifungal Activity of The Bacterial Biosurfactant. *J. of Life Sciences.*A5:77-80.
- Purnomohadi, A. 2010. *Potensi Antibakteri dan Analisis Emulsifikasi Biosurfaktan dari Isolat Bakteri Lokal (Skripsi)*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Rantekata, S. 2018. *Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Kulit Batang Banyuru (Pterospermum Celebicum Miq) dan Ekstrak Lengkuas (Alpinia galanga (L) Willd) terhadap Trichophyton Rubrum, Candida Albicans dan Aspergillus Niger (Skripsi)*. Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Rashedi, H, Assadi, M.M, Jamshidi, E, and Bonakdapour, B, 2006. Production of Rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* growing on Carbon Sources. *Int. J. Environ. Sci. Tech.* 3(3): 297-303.
- Rath, K., Singh, A. B., Chandan, S., and Vatsala R. S. 2016. Isolation and Characterization of a Biosurfactant Producing Strain *Pseudomonas aeruginosa* SMVIT 1 from Oil Contaminated Soil. *Journal of Scientific and Industrial Research.* 75(11):681–86.
- Riyanto, C.L.R., Sumardi, F. S., Ekowati, C.N. 2021. Aktivitas Biosurfaktan *Serratia Marcescens* strain MBC1 dalam Mengemulsikan Solar dengan

- Variasi pH dan Media. *Jurnal Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. 8(3) :114-122.
- Rosi, R. M. 2022. *Produksi Dan Karakterisasi Biosurfaktan Dari Bakteri Lokal Isolat PKT D4 Serta Studi Aktivitasnya Sebagai Antijamur (Skripsi)*. Universitas Lampung. Lampung.
- Ruzniza. 2005. *Production Of Biosurfactant By Locally Isolated Bacteria From Petrochemical Waste (Thesis)*. Faculty of Science University Teknologi Malaysia.
- Sari, M., Afiati, F., Kusharyoto, W. 2015. Potensi bakteri lumpur minyak sebagai penghasil biosurfaktan dan antimikroba. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*. 1 (1): 85-88.
- Sasongko, A. P. 2003. *Ekstraksi Dan Karakterisasi Biosurfaktan Bacillus Subtilis 3kp Pada molasse (Thesis)*. Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Airlangga.
- Satpute S.K., Banat I.M., Dhakephalkar P.K., Banpurkar A.G., Chopade B.A. 2010. *Biosurfactants, bioemulsifiers and exopolysaccharides from marine microorganisms*. *Biotechnol Adv*. 28(4): 436–450.
- Setiani, N.A., Agustina, N., Mardinah, I., Hamdani, S., dan Astriany, D. 2020. Potensi *Bacillus cereus* dalam produksi biosurfaktan. *Jurnal Biologi Undayana*. 24(2): 135-141.
- Shah, N., Nikam, R., Gaikwad, S., Sapre, V., and Kaur, J. 2016. Biosurfactant: Types, Detection Methods, Importance and Applications. *Indian Journal of Microbiology Research*. 3(1): 5.
- Sharma, D., Saharan, B. S., and Sahu, R. K. 2011. A Review on Biosurfactants : Fermentation , Current Developments and Perspectives . *Genetic Engineering and Biotechnology Journal*. 20(2):29–32.
- Shokouhfard, M., Kermanshahi, R. K., Shahandashti, R. V., Feizabadi, M. M., and Teimourian, S. 2015. The Inhibitory Effect of a *Lactobacillus acidophilus* Derived Biosurfactant on Biofilm Producer *Serratia marcescens*. *Iran J Basic Med Sci*. 18:1001-1007.
- Techaoei, S., Lumyong., Prathumpai, P., Santiarwarn, D., and Leelapornpisid. 2011. Screening Characterization and Stability of Biosurfactant Produced by *Pseudomonas aureginosa* SCM106 Isolated from Soil in Northern Thailand. *Asian Journal of Biological Sciences*. 4(4): 340-35.

- Thavasi, R., Jayalakshmi, S., Balasubramanian, T., Banat, I.M. 2007. Production and characterization of a glycolipid biosurfactant from *Bacillus megaterium* using economically cheaper sources. *World J Microbiol Biotechnol.* 2008(24): 917-925.
- Tjay, T. H. & Rahardja, K. 2007. Obat-obat Penting, Edisi 6, 65, Jakarta, PT. Gramedia.
- Ulum, B. 2004. *Pengaruh Konsentrasi Molase dan Natrium Nitrat terhadap Produksi Biosurfaktan Bacillus subtilis 3KP (Skripsi)*. FMIPA Universitas Airlangga. Surabaya.
- Utamy, G., Hasbi, M., dan Purwanto, E. 2011. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan pada Air Kolam Anaerob IPAL Industri Minyak Kelapa Sawit. *Jurnal Sumberdaya dan Lingkungan Akuatik.* 2(1): 231-240.
- 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.
- Velmurugan, M., Baskaran, A., Kumar, S.D., Sureka, I., Emelda, E.A.R.J., Sathiyamurthy, K. 2015. Screening, stability and antibacterial potential of rhamnolipids from *Pseudomonas* sp., isolated from hydrocarbon contaminated soil. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 5(8): 26-33.
- Waluyo, J. 2004. *Purifikasi Dan Karakterisasi Protein Antibakteri Dari Cacing Tanah (Disertasi)*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Wulandari, L. 2011. *Kromatografi Lapis Tipis*. PT. Taman Kampus Presindo. Jember.
- Xu, YY., Huang, CJ., Xu, L., Jiang, XW., Xu, XW., Xiao, WX. 2020. Complete Genome Sequences of *Leclercia* sp. W6 and W17 Isolated from a Gastric Cancer Patient. *Current Microbiology.* 77: 2775–2782.
- Yusnidar, M. 2022. *Produksi Dan Karakterisasi Biosurfaktan Dari Bakteri Indigen ALP E1 Asal Air Laut Pelabuhan Panjang Serta Uji Antibakteri Dan Antijamur (Skripsi)*. Universitas Lampung. Lampung.
- Zinjarde, S.S., and Pant, A. 2002. Emulsifier from a Tropical Marine Yeast *Yarrowia Lipolytica* NCIM 3589. *J Basic Microbiol.* 42: 67-73.