

**PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI
INDIGEN ISOLAT BSPP-1c ASAL SEDIMEN PERAIRAN PELABUHAN
PANJANG SERTA UJI POTENSI ANTIMIKROBA**

(Skripsi)

Oleh

**Astin Vidyasani
1917011057**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

**PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI
INDIGEN ISOLAT BSPP-1c ASAL SEDIMEN PERAIRAN PELABUHAN
PANJANG SERTA UJI POTENSI ANTIMIKROBA**

Oleh

Astin Vidyasani

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
2024**

ABSTRAK

PRODUKSI DAN KARAKTERISASI BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI INDIGEN ISOLAT BSPP-1c ASAL SEDIMEN PERAIRAN PELABUHAN PANJANG SERTA UJI POTENSI ANTIMIKROBA

Oleh

Astin Vidyasani

Biosurfaktan merupakan senyawa aktif permukaan yang dihasilkan dari mikroorganisme. Biosurfaktan memiliki banyak manfaat dalam berbagai aspek kehidupan manusia, salah satunya sebagai antibakteri dan antijamur. Tujuan dilakukannya penelitian ini yaitu untuk memperoleh kondisi optimum dalam memproduksi biosurfaktan, memproduksi biosurfaktan, mendapatkan identitas isolat bakteri dan karakteristik biosurfaktan yang dihasilkan, dan mengetahui kemampuan biosurfaktan sebagai antimikroba. Tahapan yang dilakukan meliputi karakterisasi bakteri indigen isolat BSPP-1c, optimasi variasi pH, optimasi kadar salinitas, produksi biosurfaktan, ekstraksi biosurfaktan menggunakan presipitasi asam, karakterisasi biosurfaktan menggunakan KLT dan FT-IR, serta uji potensi antimikroba menggunakan metode difusi cakram. Hasil menunjukkan bahwa bakteri indigen isolat BSPP-1c merupakan bakteri *Bacillus cereus*. Bakteri ini memiliki kemampuan optimum dalam memproduksi biosurfaktan pada kondisi pH 6 dan kadar salinitas 1%. Biosurfaktan yang dihasilkan memiliki nilai indeks emulsifikasi (IE_{24}) sebesar 79,27%, lebar zona bening pada uji *oil spreading* sebesar 4,2 cm, dan menunjukkan hasil positif pada uji *drop collaps*. Berdasarkan hasil karakterisasi KLT dan FT-IR didapatkan biosurfaktan yang dihasilkan merupakan golongan lipopeptida. Biosurfaktan ini memiliki potensi sebagai antimikroba dengan kategori sedang terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella sp.*, serta jamur *Candida albicans*.

Kata kunci: *Bacillus cereus*, biosurfaktan, lipopeptida, antimikroba.

ABSTRACT

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF BIOSURFACTANTS FROM INDIGENOUS BACTERIA ISOLATE BSPP-1c FROM WATERS PORT SEDIMENT PANJANG AND BACTERIAL POTENTIAL TEST

By

Astin Vidyasani

Biosurfactants are surface-active compounds produced by microorganisms, offering various benefits in different aspects of human life, including notable antibacterial and antifungal properties. This research aims to achieve optimal conditions for biosurfactant production, synthesize biosurfactants, identify bacterial isolates, characterize the produced biosurfactants, and assess their antimicrobial capabilities. The conducted stages encompass the characterization of the indigenous bacterial isolate BSPP-1c, optimization of pH variations, adjustment of salinity levels, biosurfactant production, extraction using acid precipitation, biosurfactant characterization using TLC and FT-IR, and antimicrobial potential testing through the disc diffusion method. The results revealed that the indigenous bacterial isolate BSPP-1c corresponds to *Bacillus cereus* bacteria. This bacterium demonstrates optimal biosurfactant production at a pH of 6 and a salinity level of 1%. The resulting biosurfactant exhibited an emulsification index value (IE₂₄) of 79.27%, a clear zone width in the oil spreading test of 4.2 cm, and yielded positive outcomes in the drop collapse test. The TLC and FT-IR characterization results indicated that the produced biosurfactant belongs to the lipopeptide group. This biosurfactant shows potential as a moderate antimicrobial against the bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Salmonella sp.*, as well as the fungus *Candida albicans*.

Keywords: *Bacillus cereus*, biosurfactant, lipopeptide, antimicrobial.

Judul Skripsi

**: PRODUKSI DAN KARAKTERISASI
BIOSURFAKTAN DARI BAKTERI INDIGEN
ISOLAT BSPP-1c ASAL SEDIMEN PERAIRAN
PELABUHAN PANJANG SERTA UJI
POTENSI ANTIMIKROBA**

Nama Mahasiswa

: *Astin Vidyasani*

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011057

Program Studi

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing 1



Dr. Nurhasanah, M.Si.
NIP. 197412111998022001

Pembimbing 2



Dra. Aspita Laila, M.S.
NIP. 196009091988112001

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung

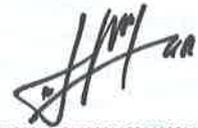


Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua : Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.



Sekretaris : Dr. Aspita Laila, M.S.



Anggota : Dr. Zipora Sembiring, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 19 Januari 2024

**LEMBAR PENGESAHAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Astin Vidyasani
Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011057
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul **“Produksi dan Karakterisasi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang serta Uji Potensi Antimikroba”** adalah benar karya saya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

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

Bandar Lampung, 19 Januari 2024
Yang Menyatakan,



Astin Vidyasani
NPM. 1917011057

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Astin Vidyasani lahir di Semarang pada 2 Desember 2000. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara, putri dari Bapak Suratman dan Ibu Surani. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri Periuk 2 Kota Tangerang pada tahun 2013. Penulis melanjutkan Pendidikan Sekolah Menengah Pertama di SMP Negeri 7 Kota Tangerang pada tahun 2013-2016 dan Pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 11 Kab. Tangerang pada tahun 2016-2019. Pada tahun 2019, penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia, penulis aktif dalam berbagai kegiatan organisasi kemahasiswaan. Penulis pernah mengikuti kegiatan Karya Wisata Ilmiah ke-33 sebagai peserta pada tahun 2019. Pada tahun yang sama, penulis aktif sebagai Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) dan anggota muda Bidang Hubungan Masyarakat Rois FMIPA Unila pada periode kepengurusan 2019. Selain itu, penulis aktif sebagai Anggota Bidang Sosial Masyarakat Himaki periode 2020 dan sebagai Sekretaris Umum Himaki periode 2021. Kemudian, penulis aktif di organisasi Rois FMIPA Unila sebagai Anggota Bidang Kaderisasi dan Kepemimpinan pada periode 2020 dan BEM FMIPA Unila sebagai Staff Ahli Dinas Sains dan Pengabdian Masyarakat (SPM) periode kepengurusan 2020 dan sebagai Sekretaris Dinas SPM pada periode kepengurusan 2022, serta berpartisipasi dalam kepanitiaan Pemilihan Raya (Pemira) FMIPA Unila tahun 2020 sebagai Sekretaris Pelaksana.

Penulis melakukan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode I tahun 2022 di Desa Sukarame, Kelurahan Carita, Kab. Pandeglang, Banten. Kemudian penulis melaksanakan PKL di Laboratorium Biokimia FMIPA Unila dengan judul “Uji Efektivitas Dekomposer *Effective Microorganism-4* (EM-4) Terhadap Penurunan *Total Suspended Solid* (TSS) Pada Limbah Cair Industri Tahu”. Selain itu, penulis pernah menjadi asisten praktikum Pengantar Kimia Analisis untuk mahasiswa jurusan Biologi Terapan pada semester satu tahun 2022 dan asisten praktikum Biokimia untuk mahasiswa jurusan Biologi semester dua dan mahasiswa jurusan Kimia semester empat pada tahun 2022.

MOTTO

“Barangsiapa yang bertaqwa kepada Allah, niscaya diberi-Nya kelapangan dan diberi-Nya rezeki yang tidak diduga-duga. Siapa yang bertawakkal kepada Allah, niscaya dijamin-Nya, sesungguhnya Allah sangat tegas dalam perintah-Nya dan Dialah yang mentakdirkan segala sesuatu.”

(QS. At-Talaq: 2-3)

“Dan segala nikmat yang ada padamu (datangnya) dari Allah, kemudian apabila kamu ditimpa kesengsaraan, maka kepada-Nyalah kamu meminta pertolongan.”

(QS. An-Nahl: 53)

“Jika kamu berbuat baik, (berarti) kamu telah berbuat baik untuk dirimu sendiri. Jika kamu berbuat jahat, (kerugian dari kejahatan) itu kembali kepada dirimu sendiri.”

(QS. Al-Isra: 7)

Jangan menjelaskan tentang dirimu kepada siapapun. Karena yang menyukaimu tidak membutuhkan itu, dan yang membencimu tidak mempercayai itu.

(Ali bin Abi Thalib)

Keberhasilan bukanlah milik orang pintar. Keberhasilan adalah kepunyaan mereka yang senantiasa berusaha.

(B.J. Habibie)

Sebaik-baik rencanamu, rencana Allah jauh lebih baik. Tetap bersyukur, ikhlas, dan sabar karena setiap manusia memiliki jalannya masing-masing, maka fokuslah pada apa yang menjadi jalanmu.

(Penulis)

PERSEMBAHAN



Atas izin dan keridhaan Allah SWT yang telah memberikan Rahmat dan Hidayah-Nya serta sholawat dan salam kepada Nabi Muhammad SAW.

Ku persembahkan karya sederhana ini sebagai wujud cinta, bakti dan sayangku kepada:

Kedua Orang Tua Ku Tercinta

Mama Surani dan Bapak Suratman

Terima kasih telah senantiasa memberikan doa, motivasi, nasihat, cinta dan kasih, serta dukungan secara moril dan finansial kepada penulis dalam segala kondisi.

Adikku Tersayang

Dzaky Ahnaf Rafif

Terima kasih telah senantiasa memberikan doa dan dukungan kepada penulis.

Rasa hormat saya kepada:

Ibu Dr. Nurhasanah, M.Si. | Ibu Dra. Aspita Laila, M.S. |

Ibu Dr. Zipora Sembiring, M.Si.

Serta seluruh dosen Jurusan Kimia

Terima kasih telah mendidik, membimbing, dan memberikan wawasan selama penulis menempuh pendidikan di kampus hingga mendapat gelar sarjana. Semoga Allah SWT membalas kebaikan Ibu, Aamiin.

Keluarga besar dan sahabat-sahabat seperjuangan, yang senantiasa memberikan doa, motivasi, nasihat dan dukungan kepada penulis.

SANWACANA

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Produksi dan Karakterisasi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen BSPP-1c Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang serta Uji Potensi Antimikroba**” sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Pada pelaksanaan dan penulisan skripsi ini penulis tidak terlepas dalam menghadapi kesulitan dan rintangan, namun semua itu dapat terlalui berkat Rahmat dan Ridha Allah SWT, serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rasulullah *Shalallahu ‘alaihi wasallam*. Manusia tauladan yang merindu dan mendoakanku, manusia yang semoga senantiasa terlintas dalam pikiran dan hatiku, semoga benih cinta ini sampai akhir hayat nanti. *Aamiin*.
2. Kedua orang tua dan adikku, yang selalu memberikan doa dan dukungan baik secara moril dan finansial. Terima kasih untuk segala doa, nasihat, *support*, pengorbanan, perjuangan, kesabaran, dan kasih sayang yang kalian berikan selama ini. Semoga Allah SWT selalu melindungi kalian dan membalas dengan Jannah-Nya yang terbaik, *Aamiin*.
3. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si., selaku dosen Pembimbing I yang senantiasa memberikan bimbingan, ilmu, saran dan kesabarannya dalam menghadapi penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

4. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S., selaku dosen pembimbing II yang senantiasa memberikan bimbingan, ilmu, dan sarannya dalam membimbing penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Ibu Dr. Zipora Sembiring, S.Si., M.Si., selaku dosen pembahas yang telah memberikan saran dan arahan kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Ibu Prof. Dr. Noviany, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik yang senantiasa memberikan nasihat, motivasi, saran dan arahan selama penulis menjalani masa perkuliahan.
7. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku dekan FMIPA Universitas Lampung.
9. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah mendidik dan memberikan ilmu yang sangat bermanfaat bagi penulis. Semoga Bapak dan Ibu selalu dalam lindungan Allah dan semoga Allah membalas kebaikan kepada Bapak dan Ibu.
10. Seluruh laboran, staff, dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan studi.
11. Keluarga besar Mama dan Bapak yang telah memberikan doa, dukungan moral dan finansial kepada penulis selama menempuh pendidikan.
12. *Nurhasanah's Research Group 2019*: Verinda Indah Sari, Cindi Pebrianti, Putpita Sari, dan Yori Pratiwi. Terima kasih sudah senantiasa hadir menemani penelitian, memberikan dukungan, nasihat, dan motivasi kepada penulis.
13. Kakak-kakak *Nurhasanah's Research Group*: Kak Nisa, Kak Vei, Kak Aul, Kak Salsa, dan Mba Nurmay, yang senantiasa memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi kepada penulis. Terima kasih Kak sudah bersedia mendengar keluh kesah, direpotkan, dan mengganggu waktu kakak-kakak.
14. Teman-teman dan adik-adik *Peer Group Biokimia*. Terima kasih telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.

15. *Organic Chemistry People's*: Mba Kartika, Kania, Bang Hadi, Kipang, dan Unggul. Terima kasih sudah membantu penulis dalam melaksanakan penelitian.
16. *Manusia Komitmen Sampe Akhir*: Dira, Cindi, dan Alinil. Terima kasih sudah senantiasa selalu ada disamping penulis dari jaman maba sampai saat ini. Terima kasih atas doa, dukungan, motivasi, telinga, bahu dan waktu yang kalian berikan, semoga Allah membalas kebaikan kalian.
17. *Sahabat Jannah*: Santi dan Eca. Terima kasih sudah menemani masa-masa perkuliahan ini walaupun jarak jauh, tapi semangat dan dukungan dari kalian sangatlah dekat. Terima kasih sudah bersedia mendengarkan cerita dan keluh kesah penulis.
18. *Keluarga Kamar Nenek RQM 3*: Mba Rahma, Ajeng, Dira, Mba Ajeng, dan Deska. Terima kasih sudah menemani penulis dimasa-masa akhir ini yang penuh ujian, semoga Allah balas kebaikan kalian.
19. *Teman-teman Kimia Unila 2019*.
20. Semua pihak yang terlibat dalam penyelesaian skripsi ini, terima kasih atas semua bantuan dan dukungan dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis mohon maaf apabila skripsi ini masih banyak kurangnya dan jauh dari kata sempurna. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat sebagaimana mestinya. *Aamiin Allahumma Aamiin*.

Bandar Lampung, 19 Januari 2024
Penulis,

Astin Vidyasani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	xv
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	4
1.3. Manfaat Penelitian.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1. Biosurfaktan	6
2.2. Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan	7
2.3. Karakterisasi Biosurfaktan	10
2.3.1. Indeks Emulsifikasi	10
2.3.2. Uji <i>Drop Collaps</i>	11
2.3.3. Uji <i>Oil Spreading</i>	11
2.4. Faktor yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan.....	12
2.4.1. Substrat Pertumbuhan.....	12
2.4.2. Usia Kultur.....	13
2.4.3. Faktor Lingkungan.....	14
2.5. <i>Fourier Transform Infra Red</i> (FT-IR).....	14
2.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	17
III. METODE PENELITIAN	18
3.1. Waktu dan Tempat.....	18

3.2. Alat dan Bahan	18
3.3. Metode Penelitian	19
3.3.1. Pembuatan Media	19
3.3.2. Peremajaan Bakteri	21
3.3.3. Optimasi Produksi Biosurfaktan	21
3.3.4. Uji Biosurfaktan	22
3.3.5. Produksi dan Ekstraksi Biosurfaktan	23
3.3.6. Karakterisasi Bakteri	24
3.3.7. Karakterisasi Biosurfaktan	25
3.3.8. Uji Biosurfaktan Sebagai Antimikroba	26
3.3.9. Diagram Alir	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	28
4.1. Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c	28
4.2. Karakteristik Molekular 16s-rRNA Bakteri Isolat BSPP-1c	29
4.3. Kondisi Optimum Produksi Biosurfaktan	32
4.3.1. pH Optimum	32
4.3.2. Kadar Salinitas Optimum	34
4.4. Produksi dan Ekstraksi Biosurfaktan	36
4.5. Karakteristik Biosurfaktan	41
4.5.1. Karakteristik Menggunakan FT-IR	41
4.5.2. Karakteristik Menggunakan KLT	43
4.6. Biosurfaktan Sebagai Antimikroba	44
4.6.1. Antibakteri	45
4.6.2. Antijamur	46
V. SIMPULAN DAN SARAN	49
5.1. Simpulan	49
5.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi biosurfaktan dan mikroba penghasilnya (Sekhon <i>et al.</i> , 2021).....	8
2. Hasil Uji Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c	37
3. Data FTIR Biosurfaktan Lipopeptida.....	43
4. Hasil Uji Bioaktivitas Antibakteri Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c	45
5. Hasil Uji Bioaktivitas Antijamur Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c	47
6. Optimasi Variasi pH.....	59
7. Optimasi Variasi Konsentrasi Salinitas.....	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Ilustrasi tahap terbentuknya emulsi (Da Silva <i>et al.</i> , 2021).	10
2. Ilustrasi tahap uji <i>drop collaps</i> (Da Silva <i>et al.</i> , 2021).	11
3. Ilustrasi tahap terbentuknya zona bening (Da Silva <i>et al.</i> , 2021).	12
4. Spektrum IR yang dihasilkan oleh bakteri isolat ALP D1	16
5. Spektrum IR biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri isolat ALP E1	17
6. Bagan Alir Penelitian	27
7. Isolat BSPP-1c Pada Media Agar Miring	28
8. Pewarnaan Gram Bakteri Isolat BSPP-1c	29
9. Hasil Amplifikasi Elektroforesis DNA	30
10. Hasil Analisis BLAST Isolat BSPP-1c	31
11. Pohon Filogenetik Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c	32
12. Optimasi Variasi pH.....	33
13. Optimasi Kadar Salinitas	35
14. Hasil Analisis KLT Supernatan Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c (a) Sinar UV 254 nm (b) Setelah Penyemprotan Ninhidrin ..	39
15. Ekstrak Kasar Biosurfaktan.....	40
16. Spektrum FT-IR Biosurfaktan dari bakteri isolat BSPP-1c	41
17. Hasil Analisis KLT Ekstrak Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c (a) Dibawah Sinar UV 254 nm (b) Setelah Penyemprotan Reagen Ninhidrin	44

18. Hasil Uji <i>Drop Collaps</i> Optimasi pH (a) Kontrol, (b) pH 6, (c) pH 7, (d) pH 8.	59
19. Hasil Uji Indeks Emulsifikasi Optimasi pH (a) Kontrol, (b) pH 6, (c) pH 7, (d) pH 8.....	60
20. Hasil Uji <i>Oil Spreading</i> Optimasi pH (a) Kontrol, (b) pH 6, (c) pH 7, (d) pH 8.	60
21. Hasil Uji <i>Drop Collaps</i> Optimasi Kadar Salinitas (a) Kontrol, (b) Salinitas 1%, (c) Salinitas 3%, (d) Salinitas 5%.	60
22. Hasil Uji Indeks Emulsifikasi Optimasi Kadar Salinitas (a) Kontrol, (b) Salinitas 1%, (c) Salinitas 3%, (d) Salinitas 5%.	60
23. Hasil Uji <i>Oil Spreading</i> Optimasi Kadar Salinitas (a) Kontrol, (b) Salinitas 1%, (c) Salinitas 3%, (d) Salinitas 5%.	61
24. Hasil Uji Antibakteri (a) <i>Staphylococcus aureus</i> , (b) <i>Escherichia coli</i> , (c) <i>Salmonella sp.</i> (Ket. S: Sampel (Biosurfaktan), K ⁺ : Kontrol Positif, K ⁻ : Kontrol Negatif).....	61
25. Hasil Uji Antijamur (a) <i>Aspergillus fumigatus</i> , (b) <i>Candida albicans</i> (Ket. S: Sampel (Biosurfaktan), K ⁺ : Kontrol Positif, K ⁻ : Kontrol Negatif).	61

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Surfaktan merupakan senyawa kimia yang bersifat amfifilik, yaitu memiliki sifat hidrofilik dan hidrofobik dalam satu molekul surfaktan. Surfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan suatu fluida sehingga dapat mengemulsi dua fluida yang tidak saling bercampur yang banyak dibutuhkan oleh berbagai industri, seperti industri kosmetik, makanan, tekstil, minyak bumi, dan farmasi. Namun, surfaktan bersifat non-*biodegradable* yang akan menimbulkan masalah lingkungan jika terlalu banyak digunakan (Rosi, 2022).

Salah satu cara untuk memecahkan masalah lingkungan ini dengan surfaktan yang berasal dari mikroorganisme, biasa disebut dengan biosurfaktan (Yusnidar, 2022). Biosurfaktan merupakan surfaktan yang disintesis oleh mikroorganisme secara ekstraseluler dan terdiri dari molekul *amphipatic* atau *amphiphilic* yang memiliki gugus hidrofobik dan hidrofilik. Biosurfaktan banyak diminati karena sifatnya yang ramah lingkungan dengan sifat *biodegradable* (dapat terdegradasi secara alami) dan tidak toksik (Yuliana, dkk., 2019). Selain itu, menurut El-Sheshtawy and Doheim (2014) biosurfaktan yang bersumber dari mikroba mempunyai beberapa keuntungan diantaranya mempunyai sifat fisik dan kimia yang stabil, mudah terurai, serta dapat stabil pada suhu tinggi.

Biosurfaktan dapat dihasilkan oleh bakteri yang berasal dari habitat aslinya atau yang disebut sebagai bakteri indigen. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengisolasi bakteri indigen penghasil biosurfaktan dari berbagai lingkungan seperti lingkungan yang terkontaminasi minyak (Jaysree, *et al.*, 2011; Liu, *et al.*,

2011), limbah pabrik minyak (Gujar *and* Hamde, 2011), sumur aspal di La Brea, Los Angeles (Belcher *et al.*, 2012), tanah disekitar bengkel mobil (Shoeb *et al.*, 2012), air laut pelabuhan Panjang (Citra, 2021), dan sedimen perairan pelabuhan Panjang (Nurhayati, 2022).

Elazzazya *et al.*, (2015) melakukan isolasi bakteri potensi biosurfaktan dari sampel tanah yang tercemar minyak, hasil penelitian menunjukkan *Virgibacillus salarius* memiliki kemampuan memproduksi biosurfaktan ditunjukkan dengan penurunan tegangan permukaan dan aktivitas pengemulsi (masing-masing 30 mN/m dan 80%). Wibisana (2018) juga melakukan isolasi bakteri penghasil biosurfaktan dari air laut yang tercemar minyak. Citra (2021) dalam penelitiannya melaporkan bahwa bakteri isolat ALP D1 yang berasal dari air laut pelabuhan Panjang mampu menghasilkan biosurfaktan jenis *lipopeptida*. Selain itu, Indrianti (2022) dalam penelitiannya juga melaporkan bahwa bakteri isolat BSPP-4 yang berasal dari sedimen perairan pelabuhan Panjang mampu menghasilkan biosurfaktan jenis *lipopeptida*.

Produksi biosurfaktan dapat ditingkatkan dengan melakukan optimasi kondisi, fisiologi, dan nutrisi (Saikia *et al.*, 2011). Faktor-faktor lainnya yang mempengaruhi produksi biosurfaktan antara lain substrat pertumbuhan seperti sumber karbon, sumber nitrogen, usia kultur, dan kondisi lingkungan seperti waktu, temperatur, pH, salinitas, dan agitasi (Saharan *et al.*, 2011). Selain itu, beberapa penelitian menunjukkan bahwa elemen seperti konsentrasi sumber karbon, sumber nitrogen, konsentrasi NaCl, dan aerasi juga memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Nugroho, 2006).

Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mengetahui kemampuan tumbuh mikroba yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan dengan sumber karbon dan sumber nitrogen yang berbeda. Ilori *et al.*, (2005) menjelaskan dalam penelitiannya bahwa sumber karbon glukosa dapat digunakan untuk menghasilkan biosurfaktan oleh isolat *Aeromonas spp.* Peneliti lainnya Wibisana *et al.*, (2015) melaporkan bahwa produksi biosurfaktan oleh *Bacillus amyloliquefaciens* dengan

penambahan glukosa dan urea sebagai sumber karbon dan nitrogen, dapat meningkatkan perolehan surfaktan 2,4 kali dibandingkan dengan kondisi sebelum optimasi yaitu 0,51 g/L menjadi 1,25 g/L. Selain itu, Yuliana dkk., (2019) dalam penelitiannya juga menunjukkan produksi biosurfaktan dari *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18 meningkat secara signifikan dengan urea sebagai sumber nitrogen.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Widjajanti dkk., (2008) diketahui jenis mikroba yang dapat menghasilkan biosurfaktan yaitu *Alcaliganes*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, dan *Flavobacterium*. Jenis biosurfaktan yang dihasilkan akan berbeda tergantung dari jenis mikroba dan substrat pertumbuhannya. Begitupun pada jenis mikroba yang sama, biosurfaktan yang dihasilkan akan berbeda jika substrat pertumbuhan yang digunakannya berbeda. Substrat merupakan salah satu faktor penting yang dapat menunjang pertumbuhan mikroba penghasil biosurfaktan. Pada suatu substrat, nutrisi yang memegang peranan penting dalam pertumbuhan mikroba adalah sumber karbon dan nitrogen yang dapat menyebabkan perbedaan signifikan terhadap konsentrasi akhir biosurfaktan. Kondisi lingkungan seperti waktu, temperatur, pH, salinitas, dan agitasi, juga dapat mempengaruhi produksi biosurfaktan (Rosi, 2022).

Studi awal terhadap bakteri isolat lokal BSPP-1c asal sedimen perairan pelabuhan Panjang Lampung, dilaporkan memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan dengan baik pada kondisi optimum pertumbuhan dengan waktu inkubasi 96 jam, menggunakan sumber karbon glukosa 2% dengan nilai indeks emulsi 84,21%, uji *oil spread* 21 mm, dan uji *drop collapse* positif. Pada sumber nitrogen, hasil optimum ditunjukkan pada sumber urea 0,3% dengan nilai indeks emulsi 77,78%, uji *oil spread* 30 mm, dan uji *drop collapse* positif. Pada konsentrasi inokulum ditunjukkan hasil optimum pada konsentrasi inokulum 5% dengan nilai indeks emulsi 100%, uji *oil spread* 7 mm, dan uji *drop collapse* positif (Nurhayati, 2022). Namun, studi tersebut belum mempelajari optimasi terhadap parameter lainnya, seperti pH dan kadar salinitas yang juga dapat mempengaruhi produksi biosurfaktan, serta belum diketahui pasti jenis biosurfaktan yang dihasilkan dari bakteri isolat BSPP-1c dan potensi antimikrobanya. Berdasarkan studi awal

tersebut, perlu dilakukan optimasi produksi biosurfaktan dari bakteri isolat BSPP-1c dengan melibatkan parameter pH, dan kadar salinitas. Kondisi optimum yang sudah diperoleh digunakan pada tahap produksi. Tahap karakterisasi dilakukan terhadap isolat BSPP-1c melalui 16S rRNA dan karakterisasi biosurfaktan dilakukan melalui analisis KLT dan FT-IR. Uji potensi antimikroba dilakukan terhadap bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif, serta jamur.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan kondisi optimum (pH dan kadar salinitas) dalam produksi biosurfaktan dari bakteri isolat lokal BSPP-1c asal sedimen perairan pelabuhan Panjang.
2. Mendapatkan biosurfaktan yang dihasilkan dari bakteri indigen isolat BSPP-1c.
3. Mendapatkan identitas isolat bakteri lokal BSPP-1c dan karakteristik biosurfaktan yang dihasilkan.
4. Mengetahui kemampuan biosurfaktan sebagai antimikroba.

1.3. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat yang diperoleh yaitu memberikan informasi tentang parameter lingkungan yang mendukung produksi optimum dalam menghasilkan biosurfaktan dari bakteri indigen isolat BSPP-1c. Hal ini dapat berdampak pada pengembangan metode produksi yang lebih efisien dan berkelanjutan. Karakterisasi biosurfaktan yang didapatkan, dapat memberikan informasi terkait potensi aplikatif biosurfaktan yang luas dalam dunia industri. Selain itu, melalui identifikasi isolat bakteri dapat menambah informasi bakteri isolat lokal yang berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan dari perairan Pelabuhan Panjang, serta dapat dikembangkan lebih lanjut dalam potensinya sebagai sumber daya alam lokal.

Pemahaman tentang kemampuan biosurfaktan sebagai antimikroba akan menjadi landasan untuk pengembangan produk yang dapat digunakan dalam pengendalian mikroorganisme patogen, yang memiliki potensi untuk memajukan industri farmasi dan kesehatan masyarakat secara umum.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Biosurfaktan

Biosurfaktan merupakan zat aktif permukaan yang bersifat ampifilik dan diproduksi oleh mikroorganisme secara ekstraseluler. Kemampuan biosurfaktan dapat mempengaruhi serta menurunkan tegangan permukaan dan tegangan antarmuka suatu media dengan cara meningkatkan kelarutan senyawa polar dalam pelarut organik dengan cara menggabungkan bagian antar fase yang berbeda kepolaran seperti minyak dan air. Biosurfaktan mengandung senyawa khas yaitu struktur ampifilik, pada satu molekul biosurfaktan terdapat gugus hidrofilik (polar) dan gugus hidrofobik (nonpolar). Gugus hidrofilik mengandung monosakarida, polisakarida, oligosakarida, peptida, atau protein. Sedangkan gugus hidrofobik mengandung asam lemak jenuh, asam lemak tak jenuh, dan lemak alkohol (Masfaridah, 2019). Terdapatnya gugus hidrofobik dan hidrofilik menyebabkan molekul ini dapat menurunkan tegangan permukaan cairan, tegangan antarmuka cairan, atau antar cairan dan padatan (Singh, 2012). Berat molekul biosurfaktan dikategorikan menjadi dua kelompok yaitu berat molekul rendah dan berat molekul tinggi. Berat molekul rendah berperan dalam menurunkan tegangan permukaan, sedangkan berat molekul tinggi berperan sebagai penstabil emulsi (Saharan *et al.*, 2011).

Biosurfaktan memiliki banyak keunggulan jika dibandingkan dengan surfaktan sintesis, seperti memiliki toksisitas yang rendah, bersifat *biodegradabel*, stabil pada kondisi pH, suhu maupun kekuatan ionik yang ekstrem, dan dapat disintesis dari bahan baku yang murah dan terbarukan. Berdasarkan struktur molekulnya, biosurfaktan dapat digolongkan menjadi glikolipida, lipopeptida, kompleks

polisakarida-protein, fosfolipida, asal lemak, dan lipida netral. Struktur molekul yang variatif tersebut menjadikan biosurfaktan memiliki potensi besar untuk diaplikasikan di berbagai industri (Wibisana, 2018).

Biosurfaktan memiliki banyak manfaat dalam berbagai aspek kehidupan manusia meliputi bidang medis, lingkungan, pertanian, dan industri. Di bidang medis, aktivitas antibakteri, antijamur, dan antivirus menjadikan biosurfaktan sebagai molekul yang relevan untuk diaplikasikan sebagai agen terapeutik. Di bidang lingkungan, biosurfaktan digunakan untuk remediasi air dan tanah. Di bidang pertanian, biosurfaktan digunakan dalam eliminasi patogen tanaman dan meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi mikroba tanaman. Di bidang industri kosmetik, biosurfaktan juga digunakan sebagai bahan pembusa (*foaming agents*), bahan pembasah (*wetting agents*), bahan pelarut (*solubilizer*), zat pengemulsi (*emulsifiers*), sebagai mediator kerja enzim, dan senyawa antimikroba (Masfaridah, 2019).

2.2. Mikroorganisme Penghasil Biosurfaktan

Biosurfaktan dapat diproduksi oleh mikroorganisme berupa mikroorganisme prokariotik maupun eukariotik. Biosurfaktan dapat diproduksi di dalam sel (intraseluler) ataupun sebagai agen ekstraseluler. Sebagian besar biosurfaktan diproduksi oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, dan ragi melalui proses biotransformasi (Soo *at al.*, 2003). Mikroorganisme diketahui menghasilkan beberapa jenis biosurfaktan seperti glikolipid, lipopeptida, fosfolipid, lipid netral atau asam lemak, dan biosurfaktan polimer (El-Sheshtawy and Doheim, 2014). Adapun mikroorganisme penghasil biosurfaktan serta jenis biosurfaktan yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel. 1.

Tabel 1. Klasifikasi biosurfaktan dan mikroba penghasilnya (Sekhon *et al.*, 2021).

Jenis Biosurfaktan	Spesies Mikroba Penghasil Biosurfaktan
Glycolipids	
<i>Trehalose mycolates</i>	<i>Rhodococcus erythropolis</i> , <i>arthrobacter paraffineu</i> , <i>mycobacterium phlei</i> , <i>nocardia erythropolis</i>
<i>Trehalose esters</i>	<i>Mycobacterium fortium</i> , <i>Micromonospora sp.</i> , <i>M.</i> <i>Smegmatis</i> , <i>M. Paraffinikum</i> , <i>Rhodococcus</i> <i>erythropolis</i>
<i>Trehalose mycolates of mono, di,</i> <i>trisaccharide</i>	<i>Corynebacterium diphtheriae</i> , <i>Mycobacterium</i> <i>smegmatis</i> , <i>Arthrobacter sp.</i>
<i>Rhamnolipids</i>	<i>Pseudomonas sp.</i>
<i>Sophorolipids</i>	<i>Rorulopsis bombicola/apicola</i> , <i>Torulopsis</i> <i>petrophilum</i> , <i>Candida so.</i>
<i>Rubiwetins R1 and RG1</i>	<i>Serratia rubidaea</i>
<i>Diglycosyl diglycerides</i>	<i>Lactobacillus fermenti</i>
<i>Schizonellins A and B</i>	<i>Schizonella melanogramma</i>
<i>Ustilipids</i>	<i>Ustilago maydis</i> and <i>Geotrichum candidum</i>
<i>Amino acid lipids</i>	<i>Bacillus sp.</i>
<i>Floccolosin</i>	<i>Pseudomonas flocculosa</i>
Phospholipid and Fatty acids	
<i>Phospholipid and Fatty acids</i>	<i>Micrococcus sp.</i> , <i>Candido sp.</i> , <i>Aspergillus sp.</i> , <i>Acinetobacter sp.</i> , <i>Micrococcus sp.</i> , <i>Thiobacillus</i> <i>thiooxidans</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Corynebacterium sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i>
Lipopeptides and lipoproteins	
<i>Gramicidin</i>	<i>Bacillus brevis</i>
<i>Peptide lipids</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Viscosin</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Lichenysin G</i>	<i>Bacillus licheniformis</i> IMI307
<i>Polymyxin E1</i>	<i>Bacillus polymyxa</i>
<i>Serrawettin</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Ornithine lipid</i>	<i>Pseudomonas rubescens</i> , <i>Thiobacillus thiooxidans</i>
<i>Cyclosporin A</i>	<i>Tolypocladium inflatum</i>
<i>Lysine lipid</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
<i>Surfactin, subtilisin, subsporin</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Cerilipin</i>	<i>Gluconobacter cerinus</i>
<i>Amphomycin</i>	<i>Streptomyces canus</i>
<i>Enduracidin A</i>	<i>Streptomyces fungicidius</i>

<i>Ornithine lipid</i>	<i>Pseudomonas sp., Thiobacillus sp., Agrobacterium sp., Gluconobacter sp.</i>
<i>Globomycin</i>	<i>Streptomyces globocaciense</i>
<i>Chlamydocin</i>	<i>Diheterospora chlamydosporia</i>
<i>Arthrofactin</i>	<i>Arthrobacter</i>
<i>Bacillomycin L</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Fengcyn</i>	<i>Bacillus thuringiensis CMB26</i>
<i>Mycobacillin</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Putisolvin I and II</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Iturin A</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Polymeric surfactants</i>	
<i>Polysccharide protein</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus strains</i>
<i>Liposan</i>	<i>Candida hypolitica</i>
<i>Manno protein</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Heteropolysaccharide (biodispersan)</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus A2</i>
<i>Carbohydrate protein</i>	<i>Candida petrophillum, Endomycopsis liplytica</i>
<i>Mannan-lipid complex</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Lipoheteropolysaccharide (Emulsan)</i>	<i>Acinetobacter, calcoaceticus RAG-1, Arethrobacter calcoaceticus</i>
<i>Carbohydrate protein-lipid complex</i>	<i>Pseudomonas fluorescens, Debaryomyces polymorphus</i>
<i>Mannose/ erythrose lipid</i>	<i>Shizonella melanogramma, Ustilago mydis</i>
<i>Protein PA</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Alasan</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>

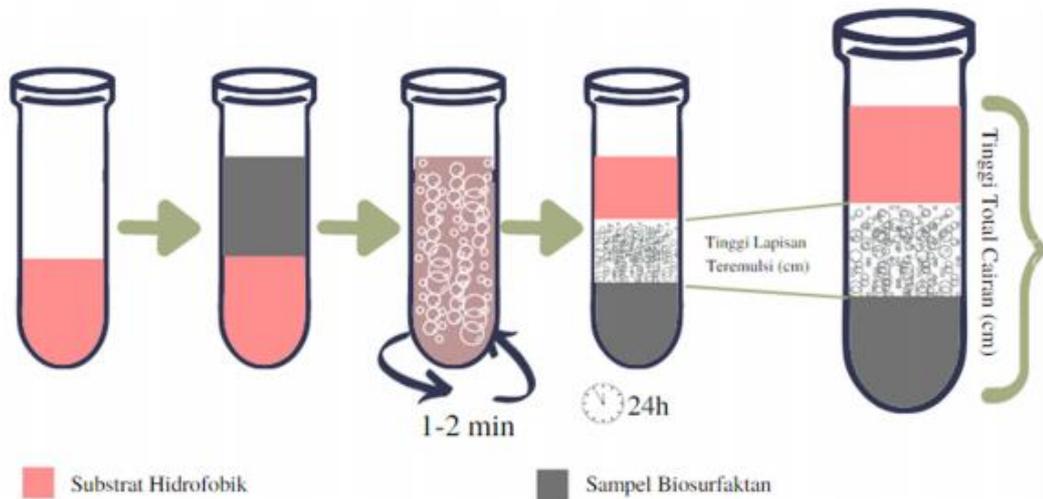
Beberapa bakteri telah diteliti dan terbukti dapat memproduksi biosurfaktan, seperti *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Halomonas*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Enterobacter*, *Serratia*, dan jamur seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Fusarium fujikuroi*, *Candida tropicalis*, *Pseudozyma*, dan *Xylaria regalis*. Strain *Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri yang terbukti dapat memproduksi biosurfaktan secara efektif. Bakteri ini dikenal dalam memproduksi biosurfaktan khusus jenis glikolipida dan lipopeptida yang banyak digunakan dan dapat dimanfaatkan dalam proses bioremediasi dan dalam bidang biomedis yaitu sebagai antijamur, antibakteri, dan antivirus (Waghmode *et al.*, 2020).

2.3. Karakterisasi Biosurfaktan

Karakterisasi biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri yang berpotensi menghasilkan biosurfaktan. Berikut beberapa cara yang dapat dilakukan untuk mengkarakterisasi biosurfaktan adalah:

2.3.1. Indeks Emulsifikasi

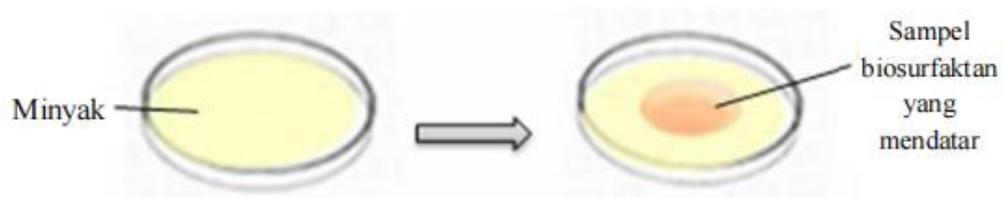
Indeks emulsifikasi ($\%IE_{24}$) merupakan aktivitas emulsi pada hidrokarbon uji dan ditetapkan sebagai persentase tinggi lapisan emulsi (mm) dibagi total tinggi dari cairan kolom (Kumar *et al.*, 2008). Prinsip uji ini yaitu dilihat dari perbandingan tinggi minyak yang teremulsi di dalam air dengan tinggi campuran minyak dan air. Emulsi terjadi karena biosurfaktan mampu menggabungkan senyawa polar dengan senyawa campuran (Setiani dkk., 2020). Ilustrasi tahap terbentuknya emulsi dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ilustrasi tahap terbentuknya emulsi (Da Silva *et al.*, 2021).

2.3.2. Uji *Drop Collaps*

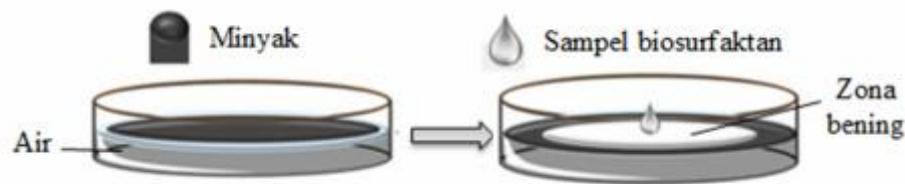
Uji *drop collaps* merupakan metode yang sensitif dan mudah untuk dilakukan karena hanya membutuhkan volume kecil ($\sim 5 \mu\text{L}$) larutan biosurfaktan untuk menguji sifat biosurfaktan. Metode ini didasarkan pada mendatarnya permukaan oli ketika ditetesi oleh biosurfaktan (Shokouhfard *et al.*, 2015). Ilustrasi tahap uji *drop collaps* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Ilustrasi tahap uji *drop collaps* (Da Silva *et al.*, 2021).

2.3.3. Uji *Oil Spreading*

Uji karakterisasi bakteri penghasil biosurfaktan lainnya dapat dilakukan dengan metode *oil spreading* untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dari bakteri yang diuji dengan mengamati kemampuan bakteri dalam menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air. Uji dilakukan dengan cara cawan petri diisi akuades sebanyak 20 mL lalu ditambahkan hidrokarbon di atasnya hingga terbentuk lapisan tipis pada permukaan akuades. Lalu tambahkan 1 tetes supernatan di atas permukaan minyak. Hasil positif ditandai dengan memisahkannya minyak dengan membentuk zona bening. Larutan akuades digunakan sebagai kontrol negatif (Gozan *et al.*, 2014). Ilustrasi tahap terbentuknya zona bening dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Ilustrasi tahap terbentuknya zona bening (Da Silva *et al.*, 2021).

2.4. Faktor yang Mempengaruhi Produksi Biosurfaktan

Biosurfaktan dapat diproduksi dengan berbagai substrat seperti karbohidrat, lipid, dan protein. Produksi biosurfaktan oleh mikroba tergantung dari jenis mikroorganisme dan kondisi pertumbuhan seperti sumber karbon, sumber nitrogen, pH, dan suhu (Rahayu, 2015). Berikut ini faktor-faktor yang dapat mempengaruhi produksi biosurfaktan:

2.4.1. Substrat Pertumbuhan

Pada proses fermentasi, rasio sumber karbon dan nitrogen juga mempengaruhi produksi biosurfaktan (Gurkok, 2021). Produksi biosurfaktan biasanya dinyatakan optimal pada fase stasioner pertumbuhan sel ketika sumber nitrogen mulai habis dalam media kultur (Nurfarahin *et al.*, 2018).

1. Sumber Karbon

Sumber karbon dari berbagai jenis sangat penting dan sangat mempengaruhi hasil produksi biosurfaktan baik dalam segi kualitas maupun kuantitas (Jimoh, 2019). Sumber karbon untuk produksi biosurfaktan dibagi menjadi tiga kelompok yaitu karbohidrat seperti glukosa, sukrosa, fruktosa, mannitol, dan laktosa, hidrokarbon seperti n-heksanadekana, dan n-heksana, oktadekana dan minyak nabati seperti

minyak bunga matahari, minyak kedelai, dan minyak zaitun (Nurfarahin *et al.*, 2018). Limbah minyak goreng, molasse, buah dan residu buah, produk pertanian yang kaya pati, limbah terbarukan dan murah untuk produksi biosurfaktan telah menemukan cakupan luas dalam beberapa tahun terakhir (Rodriguez *et al.*, 2019).

2. Sumber Nitrogen

Nitrogen adalah nutrisi terpenting kedua yang dibutuhkan untuk menghasilkan biosurfaktan oleh mikroorganisme. Sumber nitrogen komposit sangat penting untuk pertumbuhan mikroba, perkembangan konstituen sel, dan sintesis metabolit bioaktif (Jimoh, 2019). Terdapat dua jenis sumber nitrogen, yaitu sumber nitrogen organik (pepton, ragi, dan ekstrak daging, urea) dan sumber nitrogen anorganik (amonium sulfat, amonium nitrat, natrium nitrat, kalium nitrat, amonium klorida). Senyawa nitrogen organik dengan struktur kompleks lebih disukai karena tidak menyebabkan perubahan pH secara drastis. Penggunaan garam anorganik menyebabkan hidrolisis kation atau anion sehingga dapat mempengaruhi pH media kultur, sehingga mengurangi efisiensi fermentasi (Nurfarahin *et al.*, 2018).

2.4.2. Usia Kultur

Faktor lain yang mempengaruhi produksi biosurfaktan pada kultur *batch* adalah usia kultur. Fase stasioner hingga fase kematian meningkatkan produksi biosurfaktan secara signifikan. Semakin tua usia kultur maka akan semakin banyak juga nutrisi yang digunakan oleh mikroorganisme, sehingga menyebabkan nutrisi dalam kultur *batch* semakin terbatas. Hal tersebut dapat menyebabkan akumulasi produk sisa metabolisme yang mengakibatkan perubahan pada metabolisme sel dan produksi biosurfaktan. Bertambahnya usia kultur dapat berhubungan dengan pembentukan mikroba permukaan sel yang hidrofobik untuk digunakan dalam emulsi minyak dalam udara.

2.4.3. Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan sangat penting dalam hasil produksi dan karakterisasi dari biosurfaktan. Untuk memperoleh biosurfaktan dalam jumlah yang besar, bioproses perlu untuk dioptimalkan karena produk dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan, seperti perubahan suhu, pH, dan salinitas yang digunakan. Pengaruh pH terhadap biosurfaktan yang dihasilkan dengan produksi terbaik terjadi pada rentang pH 7,0-8,0 (Neibaho, dkk., 2020).

Aerasi dan agitasi merupakan faktor penting yang mempengaruhi produksi biosurfaktan karena keduanya memfasilitasi transfer oksigen dari fase gas ke fase air. Adamezak dan Bednarski (2000) mengamati bahwa nilai produksi surfaktan terbaik (45,5 g/l) diperoleh ketika laju aliran udara 1 vvm dan konsentrasi oksigen terlarut dipertahankan pada saturasi 50%. Kondisi garam dari media tertentu juga memiliki efek yang sesuai pada produksi biosurfaktan karena aktivitas seluler mikroorganisme dipengaruhi oleh konsentrasi garam. Namun, pengamatan sebaliknya diperhatikan untuk beberapa produksi biosurfaktan yang tidak terpengaruh oleh konsentrasi hingga 10% (berat/volume) meskipun sedikit penurunan CMC terdeteksi.

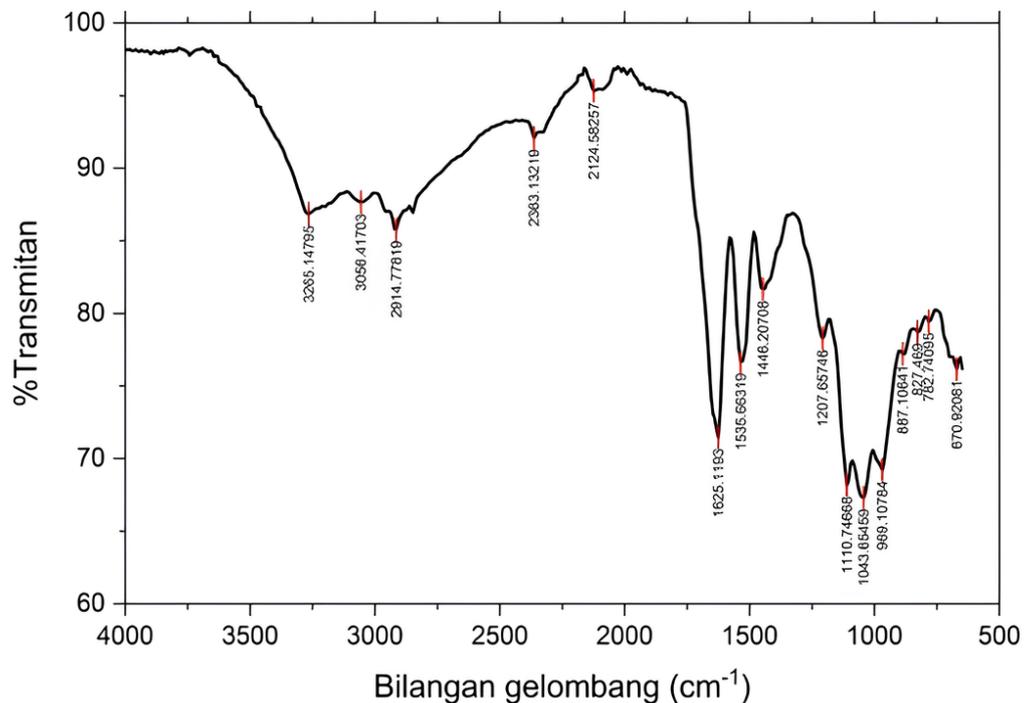
2.5. *Fourier Transform Infra Red (FT-IR)*

Fourier Transform Infra Red (FT-IR) merupakan suatu teknik analisis yang digunakan untuk melihat gugus-gugus dalam sebuah molekul ataupun senyawa melalui vibrasi-vibrasi yang ditimbulkan oleh atom tersebut. Spektrum *Infra Red (IR)* digunakan untuk melihat gugus-gugus dalam sebuah molekul yang diperoleh dengan cara menembakkan radiasi sinar infra merah ke sampel untuk menentukan fraksi apa yang terjadi saat melewati radiasi yang terabsorpsi dengan energi khusus. Energi yang terdapat pada beberapa puncak dalam sebuah spektrum absorpsi menunjukkan kecocokan terhadap frekuensi pada vibrasi dari sebagian molekul sampel (Ayyad, 2011).

Secara umum, terdapat empat wilayah jenis ikatan yang dapat dianalisis di FTIR. Ikatan tunggal seperti O-H, C-H, N-H dapat dideteksi pada panjang gelombang tinggi ($4000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$). Ikatan rangkap tiga seperti $\text{C}\equiv\text{C}$ dan $\text{C}\equiv\text{N}$ dapat dideteksi pada panjang gelombang $2500\text{-}2000\text{ cm}^{-1}$. Ikatan ganda seperti $\text{C}=\text{O}$, $\text{C}=\text{N}$ dan $\text{C}=\text{C}$ dapat dideteksi pada panjang gelombang $2000\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan ikatan molekul kompleks akan dideteksi sebagai daerah *finerprint* yang terdeteksi pada panjang gelombang rendah ($1500\text{-}650\text{ cm}^{-1}$) (Mohamed *at al.*, 2017).

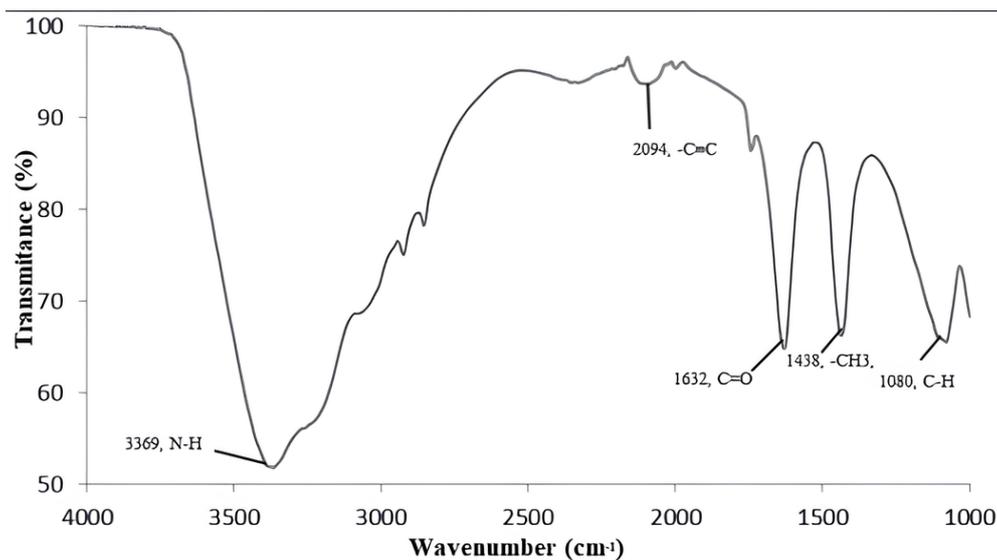
FT-IR dapat digunakan untuk mengetahui gugus-gugus yang terkandung dalam sampel uji, salah satunya adalah biosurfaktan. Gugus-gugus fungsi yang telah diperoleh akan mempermudah untuk mengetahui jenis biosurfaktan yang dianalisis. Biosurfaktan dengan jenis yang berbeda akan menghasilkan serapan FT-IR yang berbeda.

Citra (2020) melaporkan bahwa bakteri isolat ALP D1 diduga dapat memproduksi senyawa biosurfaktan jenis lipopeptida, yang ditandai dengan terbentuknya spektrum pada bilangan gelombang 3265 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan NH *stretching*, CO *stretching* pada bilangan gelombang 1207 cm^{-1} , CO-N *stretching* pada bilangan gelombang 1625 cm^{-1} , dan membentuk CH alifatik pada bilangan gelombang $1625\text{-}1446\text{ cm}^{-1}$. Spektrum IR yang terbentuk dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Spektrum IR yang dihasilkan oleh bakteri isolat ALP D1

Yusnidar (2022) telah mengkarakterisasi biosurfaktan yang diproduksi dari bakteri indigen isolat ALP E1, memperoleh spektrum pada rentang 4000-1000 cm^{-1} . Spektrum IR yang terbentuk yaitu pada puncak karakteristik 3369 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan N-H. Puncak spektrum pada 2094 cm^{-1} menunjukkan adanya intensitas $\text{C}\equiv\text{C}$. Sementara itu, spektrum pada bilangan gelombang 1632 cm^{-1} menunjukkan keberadaan $\text{C}=\text{O}$. Pita serapan pada bilangan gelombang 1438 cm^{-1} dan 1080 cm^{-1} masing-masing mewakili $-\text{CH}_3$ dan ikatan C-H. Spektrum IR biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri indigen isolat ALP E1 dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum IR biosurfaktan yang dihasilkan oleh bakteri isolat ALP E1

2.6. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan uji kualitatif untuk mengetahui sifat kimia biosurfaktan berdasarkan tingkat kepolaran (Setiani, dkk., 2020). Prinsip KLT adalah adanya perbedaan sifat fisik dan kimia dari senyawa, seperti kecenderungan dari molekul untuk melarut dalam larutan, kecenderungan molekul untuk menguap, dan kecenderungan molekul untuk melekat pada permukaan (adsorpsi). Prinsip dalam fase gerak yaitu *like dissolve like*, pelarut polar akan larut dalam pelarut polar dan pelarut non polar akan larut dalam pelarut non polar. Fase diam yang digunakan yaitu lapis tipis penjerap, dapat terbuat dari silika yang telah dimodifikasi, resin penukar ion, gel eksklusi, dan siklodektrin yang digunakan untuk pemisahan kiral. Eluen yang baik yaitu eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak dan di tandai dengan munculnya noda (Nada, 2022). 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.

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Januari-Agustus 2023 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi morfologi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi 16S-rRNA bakteri dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung. Karakterisasi biosurfaktan menggunakan KLT dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung. Karakterisasi biosurfaktan menggunakan FT-IR dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung. Uji antimikroba yang dilakukan di Balai Veteriner Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer, tabung reaksi, spatula, cawan petri, gelas ukur, gelas kimia, pipet tetes, jarum ose, bunsen, tabung sentrifuga, indikator pH, mikropipet model *Dragon Lab*, neraca analitik model *DJ-V220A Lucky*, autoclave model *S-90N*, oven model *T60 Heraus*, inkubator model *Precistern P'selecta*, pH meter model *Metrohm 827 pH*, shaker incubator model *Reciprocating shaker SSL2*, Laminar Air Flow (LAF) model *Curma 9005-FL*, freezer, magnetic stirrer, hotplate stirrer model *Stuart 162*, vorteks model *Grant Bio PV-1*, sentrifuga model *225 Fisher Scientific*, freeze

dryer model *Scanvac Cool Safe*, NanoPhotometer model P300 Implen, *Fourier Transform Infra Red* (FT-IR) model *Agilent Technologies Carry*, pelat KLT, dan *chamber*.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat BSPP-1c yang sudah berhasil diisolasi dari sedimen perairan Pelabuhan Panjang (Nurhayati, 2022), *nutrient agar*, *nutrient broth*, *Mueller Hinton Agar* (MHA), *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), kapas, kassa, kertas cakram, aquades, aluminium foil, plastik *warp*, glukosa, urea, ninhidrin, kloroform, metanol, asam asetat, oli, dan media *Mineral Salt Medium* (MSM) yang meliputi KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, dan $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.

3.3. Metode Penelitian

3.3.1. Pembuatan Media

3.3.1.1. Media *Nutrient Agar* (NA)

Media NA dibuat dengan cara 2,8 gram NA ditimbang lalu dilarutkan ke dalam 100 mL akuades, dipanaskan di atas penangas air dan disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C tekanan 1 atm. Setelah itu ditunggu sampai tidak terlalu panas dan dimasukkan ke dalam *Laminar Air Flow*. Media *Nutrient Agar* (NA) siap digunakan untuk meremajakan isolat bakteri.

3.3.1.2. Media *Nutrient Broth* (NB)

Sebanyak 1,3 gram *Nutrient Broth* (NB) ditimbang lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu ditutup dengan sumbat dan disterilkan menggunakan autoklaf pada

suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Media *Nutrient Broth* (NB) siap digunakan untuk media inokulum atau adaptasi bakteri.

3.3.1.3. *Mineral Salt Medium* (MSM)

Media *Mineral Salt Medium* (MSM) ini digunakan untuk inokulasi bakteri penghasil biosurfaktan. Komposisi MSM yang digunakan adalah KH_2PO_4 2 g/L, K_2HPO_4 5 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 3 g/L, NaCl 0.1 g/L, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L, dan $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.2 g/L (b/v) lalu dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Kemudian disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 1 atm selama 15 menit. Setelah itu, media disimpan dalam *laminar air flow* dan siap untuk digunakan. Media *Mineral Salt Medium* (MSM) merupakan media selektif untuk pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan (Nurlaila, 2016).

3.3.1.4. *Media Mueller Hinton Agar* (MHA)

Media MHA merupakan media yang digunakan untuk uji antibakteri. Uji ini dilakukan dengan 3,8 gram MHA dilarutkan dalam 100 mL akuades, lalu dipanaskan. Media yang telah larut seluruhnya, kemudian dipanaskan dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media MHA dituangkan ke dalam cawan petri yang telah disterilisasi. Penuangan tersebut dilakukan di dalam *Laminar Air Flow*, kemudian media didinginkan sampai memadat, dan jika tidak terlihat adanya kontaminan/pengotor, maka media dapat digunakan.

3.3.1.5. Media Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Media SDA digunakan untuk melakukan uji antijamur. Media ini dibuat dengan cara melarutkan 6,5 gram SDA dalam 100 mL akuades. Kemudian media dipanaskan hingga larut dengan sempurna dan tidak terjadi penggumpalan. Selanjutnya media dimasukkan ke dalam tabung reaksi/tabung vial sesuai kebutuhan dan ditutup. Media disterilkan dalam *autoclave* dengan temperatur 121°C, tekanan 1 atm selama 15 menit. Tuangkan media pada cawan petri steril, lalu biarkan memadat (Warsinah dan Sunarto, 2011).

3.3.2. Peremajaan Bakteri

Peremajaan bakteri dilakukan dengan cara isolat BSPP-1c diambil 1 ose, lalu digoreskan ke media NA miring. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Prosesnya dilakukan dalam keadaan aseptik. Setelah itu biakan hasil peremajaan siap digunakan sebagai stok kultur dan disimpan di dalam lemari pendingin 4°C.

3.3.3. Optimasi Produksi Biosurfaktan

3.3.3.1. Optimasi pH

Optimasi pH dilakukan dengan cara hasil biakan isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam campuran media MSM dengan 2% glukosa sebagai sumber karbon yang telah ditambah urea 0,3% sebagai sumber nitrogen optimum dan telah dibuat variasi pH yaitu pH 6, 7, dan 8 dengan menambahkan larutan NaOH 1 N dan HCl 1 N. Sampel kontrol digunakan sebagai pembanding dengan perlakuan yang sama tanpa penambahan variasi pH. Selanjutnya media MSM disterilisasi menggunakan *autoclave*, lalu ditambahkan 5% (v/v) inokulum dari media NB ke dalam setiap variasi pH media MSM. Kemudian diinkubasi

pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama 96 jam (waktu produksi optimum) dari isolat bakteri, kemudian dilakukan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Yakimov, 1995).

3.3.3.2. Optimasi Kadar Salinitas

Optimasi kadar salinitas dilakukan dengan cara hasil biakan isolat bakteri dari media NB dimasukkan sebanyak 1% ke dalam MSM yang ditambahkan 5% glukosa sebagai sumber karbon optimum dan urea 0,3% sebagai sumber nitrogen optimum, pH media diatur sesuai kondisi pH optimum, dan dilakukan variasi konsentrasi NaCl yaitu 1; 3; dan 5%. Selanjutnya biakan bakteri diinkubasi pada suhu 30 °C menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 110 rpm selama 96 jam (waktu produksi optimum) dan pH optimum. Setelah itu dilakukan uji emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Suwansukho *et al.*, 2008).

3.3.4. Uji Biosurfaktan

Uji biosurfaktan dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat bakteri yang digunakan dalam menghasilkan biosurfaktan yaitu uji emulsifikasi, *drop collapse*, dan *oil spread*.

3.3.4.1. Uji Indeks Emulsifikasi

Uji ini dilakukan dengan cara kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Selanjutnya sebanyak 2 mL supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 mL benzena sebagai substrat non polar pembentuk emulsi. Kemudian divorteks 2 menit, lalu didiamkan selama 24 jam dan dihitung nilai indeks emulsifikasinya.

Kontrol negatif menggunakan akuades (Pereira *et al.*, 2013). Indeks emulsifikasi (%) ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Indeks emulsifikasi (\%)} = \frac{\text{tinggi lapisan teremulsi (cm)}}{\text{tinggi total cairan (cm)}} \times 100\%$$

3.3.4.2. Uji *Drop Collapse*

Kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Uji ini dilakukan dengan cara meneteskan sebanyak 1 tetes oli bekas pada cawan petri dan didiamkan beberapa saat pada suhu ruang. Kemudian sebanyak 1 tetes supernatan di atas oli bekas. Setelah itu, aktivitas biosurfaktan diamati berdasarkan atas penambahan luas permukaan senyawa uji dibandingkan dengan kontrol. Kontrol negatif menggunakan akuades. Hasil uji dinyatakan positif jika tetesan berubah menjadi datar atau melebar (Płaza *et al.*, 2006).

3.3.4.3. Uji *Oil Spread*

Kultur cair bakteri disentrifius dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Akuades dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 mL, lalu ditambahkan hidrokarbon di atasnya hingga terbentuk lapisan tipis pada permukaan akuades. Kemudian ditambahkan 1 tetes (20 μ L) supernatan pada tengah lapisan hidrokarbon. Hasil positif ditandai dengan memisahkannya minyak dengan membentuk zona bening. Larutan akuades digunakan sebagai kontrol negatif (Pereira *et al.*, 2013).

3.3.5. Produksi dan Ekstraksi Biosurfaktan

Produksi biosurfaktan bertujuan untuk mendapatkan ekstrak biosurfaktan dari bakteri lokal isolat BSPP-1c. Produksi dilakukan dengan cara menginokulasi

bakteri isolat BSPP-1c ke dalam media NB dan *dishaker* selama 24 jam di dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm dan suhu 30°C. Konsentrasi inokulum 5% yang telah dikultur 24 jam pada media NB dipindahkan ke dalam 1000 L media MSM yang telah ditambah 5% glukosa sebagai sumber karbon optimum dan urea 0,3% sebagai sumber nitrogen optimum (Nurhayati, 2022). Media produksi kemudian *dishaker* menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm, suhu 30°C hingga 96 jam. Media disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan yang diperoleh dilakukan uji emulsifikasi, uji *drop collapse*, dan uji *oil spreading* serta digunakan untuk tahap ekstraksi.

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 supernatant 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 (Nitschke *et al.*, 2004). Supernatan yang dihasilkan dari sentrifugasi kemudian dilakukan *freeze drying*, yang bertujuan untuk memisahkan biosurfaktan murni dari sisa pengotor. Biosurfaktan kemudian ditimbang untuk digunakan pada uji selanjutnya.

3.3.6. Karakterisasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan cara pengamatan morfologi dan identifikasi berdasarkan gen 16S rRNA. Identifikasi 16S rRNA dilakukan terhadap isolat BSPP-1c. Proses identifikasi 16S rRNA diawali dengan ekstraksi DNA, kemudian dilanjutkan dengan amplifikasi menggunakan primer spesifik 16S rRNA yaitu primer 27F dan 1492R. Hasil amplifikasi kemudian disekuensing dan dianalisis menggunakan BLAST dalam NCBI, selanjutnya dibuat pohon filogenetik menggunakan MEGA. Identifikasi berdasarkan karakter morfologi dilakukan sebagai uji konfirmasi antara isolat bakteri BSPP-1c dan data yang muncul dalam

BLAST. Karakter morfologi yang diamati meliputi pengamatan bentuk, warna, tepian koloni, dan pewarnaan gram (Pangestu, 2016).

3.3.7. Karakterisasi Biosurfaktan

3.3.7.1. Karakterisasi Menggunakan FT-IR

Ekstraksi biosurfaktan yang diperoleh, selanjutnya dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FT-IR). Karakterisasi ini bertujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam ekstrak biosurfaktan. Ekstrak biosurfaktan diambil sebanyak 1 mg dan ditambahkan 100 mg KBr, ekstrak biosurfaktan dikarakterisasi menggunakan FTIR dengan bilangan gelombang 4000 hingga 650 cm^{-1} (Rane, 2017).

3.3.7.2. Karakterisasi Menggunakan KLT

Isolat biosurfaktan BSPP-1c dilarutkan ke dalam kloroform. Sebanyak 10 μL ekstrak biosurfaktan ditotolkan pada pelat KLT dengan ukuran 2x2 cm. Pelat dimasukkan ke dalam sistem pelarut yang terdiri dari kloroform: methanol: asam asetat (65:25:4, v/v/v). Untuk mendeteksi komponen karbohidrat dalam fraksi yang dipisahkan, pelat KLT ditetesi dengan reagen anthrone yang disiapkan dalam H_2SO_4 pekat. Untuk mendeteksi komponen lipid, pelat KLT dikenai asap iodium. Adanya komponen protein atau asam amino dalam fraksi yang dipisahkan ditentukan dengan meneteskan pelat KLT dengan larutan ninhidrin (George dan Jayachandran, 2009; Tahzibi *et al.*, 2004).

3.3.8. Uji Biosurfaktan Sebagai Antimikroba

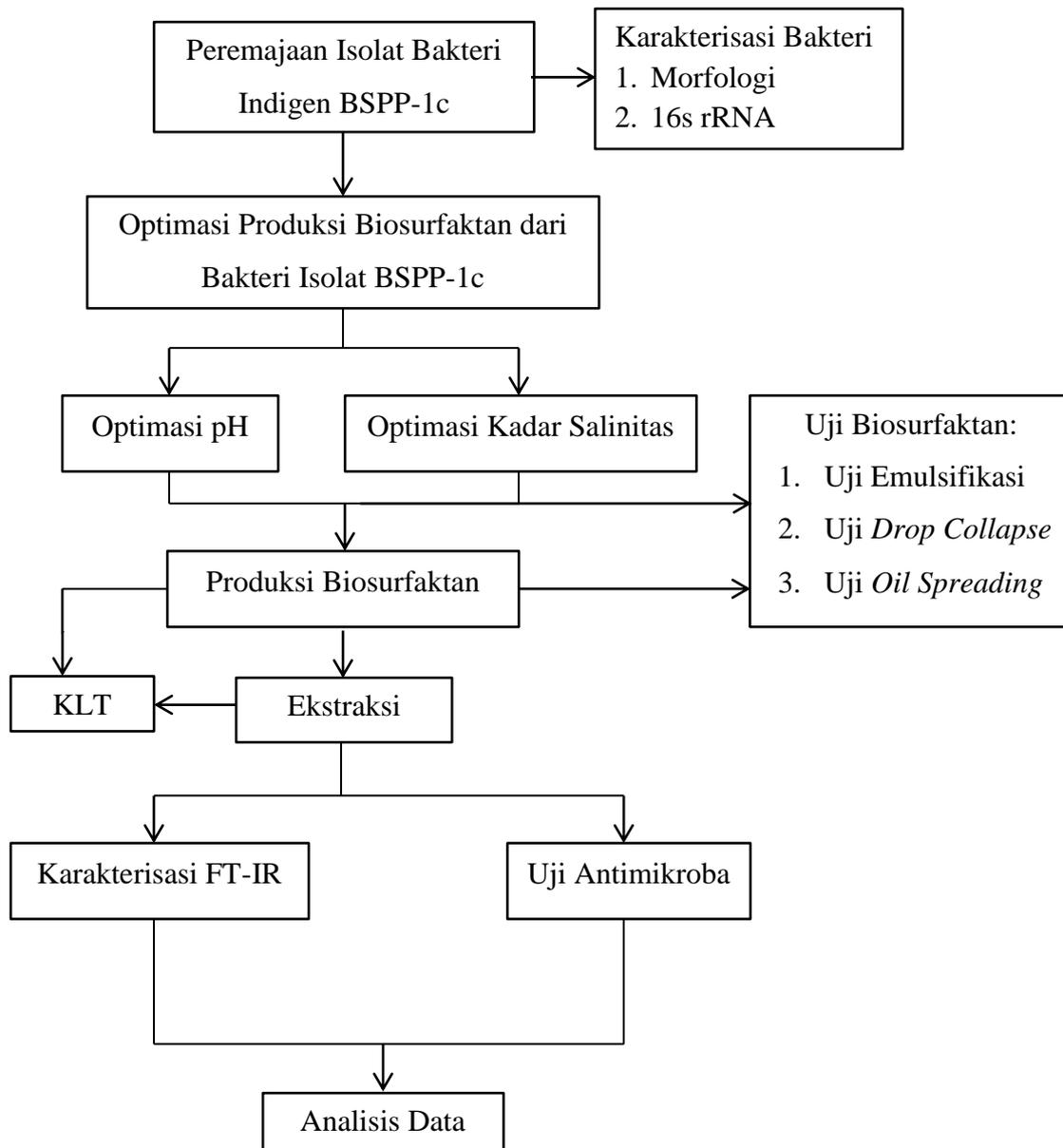
3.3.8.1. Uji Antibakteri

Uji aktifitas antibakteri dilakukan terhadap beberapa bakteri uji, baik bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) maupun bakteri gram negatif (*Escherichia coli*). Suspensi bakteri diinokulasikan ke dalam media MHA yang telah dibuat sebelumnya, dan diratakan diatas permukaan media menggunakan spreader. Kertas cakram yang telah dicelupkan pada biosurfaktan diletakkan di atas lapisan agar. Kontrol positif menggunakan Ciprofloxacin, dan kontrol negatif menggunakan methanol yang diteteskan pada kertas cakram. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, pembentukan zona hambat disekitar kertas cakram diukur diameternya menggunakan jangka sorong (Das *at al.*, 2008).

3.3.8.2. Uji Antijamur

Uji aktifitas 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 konsentrasi 30 µg/mL diletakkan diatas lapisan agar. Kontrol positif menggunakan nystatin 30 µg/mL. Kultur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, dilakukan pengukuran zona hambat disekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong (Rantekata, 2018).

3.3.9. Diagram Alir



Gambar 6. Bagan Alir Penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh simpulan sebagai berikut:

1. Kondisi optimal (pH dan kadar salinitas) dalam produksi biosurfaktan dari bakteri isolat lokal BSPP-1c diperoleh pada kondisi pH 6 dan kadar salinitas 1%.
2. Biosurfaktan yang dihasilkan berwarna coklat kekuningan dengan berat 0,187g.
3. Berdasarkan analisis morfologi dan sequencing 16S rRNA isolat bakteri lokal BSPP-1c memiliki kemiripan sebesar 100% terhadap *Bacillus cereus* strain ZGTB14-11, analisis karakteristik KLT dan FT-IR biosurfaktan yang dihasilkan termasuk dalam golongan lipopeptida.
4. Biosurfaktan yang dihasilkan memiliki potensi sebagai antibakteri dengan kategori sedang terhadap bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella sp.*), serta memiliki potensi sebagai antijamur terhadap jamur *Candida albicans* dengan kategori sedang.

5.2. Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat beberapa saran untuk penelitian selanjutnya antara lain melakukan optimasi produksi biosurfaktan dengan parameter agitasi dan aerasi, melakukan analisis karakterisasi lebih lanjut

menggunakan instrumen LC-MS dan NMR, serta melakukan uji bioaktivitas lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adamezak, M., and Bednarski, W. 2000. Influence of Medium Composition and Aeration on the Synthesis of Biosurfactants Produced by *Candida antarctica*. *Biotechnology Letter*. 22: 313–316.
- Almansooriya, A.F., Hasan, H.A., Idrisa, M., Abdullah, S.R.S., Anuar, N., Tibin, El M.M. 2016. Biosurfactant production by the hydrocarbon-degrading bacteria (HDB) *Serratia marcescens*: Optimization using central composite design (CCD). *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 47: 272-280.
- Ayangbenro, A.S., and Babalola, O.O. 2020. Genomic Analysis of *Bacillus cereus* NWUAB01 and its Heavy Metal Removal from Polluted Soil. *Nature Research*. 10: 19660.
- Ayyad, O.D. 2011. Novel Strategies The Synthesis of Metal Nanoparticle and Nanostructure. *Thesis*. Universitat de Barcelona. Spain.
- Belcher, R. W., Huynh, K. V., Hoang, T. V., and Crowley, D. E. 2012. Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria from the Rancho La Brea Tar Pits. *World Microbiol Biotechnol*. 28: 3261–3267.
- Bhuvaneswari, M., Sivagurunathan, P., and Uma, C. 2016. Utilization of Different Carbon Source for Biosurfactant Production by a Marine *Pseudomonas sp.* PNB 34 from Cuddalore District. *International Journal Of Advanced Research in Biological Science*. 3(12): 57-62.
- Citra, S. 2021. Produksi dan Karakterisasi Biosurfaktan dari Bakteri Lokal Air Laut Pelabuhan Panjang Menggunakan Sumber Karbon Minyak Bumi. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Chittepu, O.R. 2019. Isolation and Characterization of Biosurfactant Producing Bacteria from Groundnut Oil Cake Dumping Site for The Control of Foodborne Pathogens. *Grain & Oil Science and Technology*. 2: 15–20.
- Da Silva, A. F., Banat, I. M., Giachini, A. J., and Robl, D. 2021. Fungal Biosurfactants, from Nature to Biotechnological Product: Bioprospection, Production and Potential Applications. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 44(10): 2003-2034.

- Das, P., Mukherjee, S., and Sen, R. 2008. Antimicrobial Potential of a Lipopeptide Biosurfactant Derived from a Marine *Bacillus circulans*. *Journal of Applied Microbiology*. 104(6): 1675–1684.
- Elazzazya, A. M., Abdelmoneim, T. S., and Almaghrabi, O. A. 2015. Isolation and Characterization of Biosurfactant Production Underextreme Environmental Conditions by Alkali-halo-thermophilicbacteria from Saudi Arabia. *Journal of Biological Sciences*. 23: 1–6.
- El-Sheshtawy, H. S., and Doheim, M. M. 2014. Selection of *Pseudomonas aeruginosa* for biosurfactant production and studies of its antimicrobial activity. *Egyptian Journal of Petroleum*. 23(1): 1–6.
- Fitria, A.N., dan Zulaika, E. 2018. Aklimatisasi pH dan Pola Pertumbuhan *Bacillus cereus* S1 pada Medium MSM Modifikasi. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 7(2): E39-E41.
- Fessenden, R.J., and Fessenden, J.S. 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 2, Terjemahan Oleh A.H. Pudjaatmaka*. Erlangga. Jakarta.
- George, S., and Jayachandran. 2009. Analysis of *Rhamnolipid* Biosurfactants Produced Through Submerged Fermentation Using Orange Fruit Peelings as Sole Carbon Source. *Journal Applied Biochemistry and Biotechnology*. 158(3): 694–705.
- Gozan, M., Fatimah, N. I., Nanda, C., dan Haris, A. 2014. Produksi Biosurfaktan oleh *Pseudomonas Aeruginosa* dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi. *Warta IHP*. 31(2): 12-14.
- Gujar, R. S., and Hamde, V. S. 2011. Screening and Optimization of Biosurfactant Producing Bacteria from Oil Mill Area MIDC. *Journal of Ecobiotechnology*. 3(11): 12–14.
- Gurkok, S. 2021. Chapter 17 - Important Parameters Necessary in the Bioreactor for the Mass Production of Biosurfactants in Inamuddin, C. O. Adetunji, and A. M. Asiri (Eds). *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*. 347–365.
- Ilori, M. O., Amobi, C. J., and Odocha, A. C. 2005. Factors Affecting Biosurfactant Production by Oil Degrading *Aeromonas spp.* Isolated from a Tropical Environment. *Chemosphere*. 61(7): 985–992.
- Indrianti, W. 2022. Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Isolat Lokal BSPP-4 Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang dan Uji Potensi Antibakteri. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.

- Jaysree, R. C., Basu, S., Singh, P. P., Ghosal, T., Patra, P. A., Keerthi, Y., and Rajendran, N. 2011. Isolation of Biosurfactant Producing Bacteria from Environmental Samples. *Pharmacology*. 3: 1427–1433.
- Jimoh, A. A., and Lin, J. 2019. Ecotoxicology and Environmental Safety Biosurfactant : A new frontier for greener technology and environmental sustainability. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 184.
- Kiran, G. S., Priyadharsini, S., Sajayan, A., Priyadharsini, G. B., Poullose, N., and Selvin, J. 2017. Production of Lipopeptide Biosurfactant by a Marine *Nesterenkonina sp.* and Its Application in Food Industry. *Frontiers in Microbiology*. 8(1): 1-11.
- Kim, S., Patel, D.S., Park, S., Slusky, J., Klauda, J.B., Widmalm, G., and Im, W. 2016. Bilayer Properties of Lipid A from Various Gram-Negative Bacteria. *Biophys J*. 111(8): 1750-1760.
- Kumar, M., Leon, V., De Sisto Materano, A., Ilzins, O. A., and Luis, L. 2008. Biosurfactant Production and Hydrocarbon Degradation by Halotolerant and Thermotolerant *Pseudomonas sp.* *World Journal Microbiol Biotechnol*. 24: 1047–1057.
- Liu, T., Hou, J., Zuo, Y., Bi, S., and Jing, J. 2011. Isolation and Characterization of a Biosurfactant-Production Bacterium from Daqing Oil-Contaminated Sites. *Afr Journal Microbiol Res*. 5(21): 3509.
- Masfaridah, R. 2019. Optimasi Produksi dan Karakterisasi Biosurfaktan yang Dihasilkan oleh *Streptomyces*. *Skripsi*. Universitas Airlangga. Surabaya.
- Mohamed, M. A., Jaafar, J., Ismail, A.F., Othman, M.H.D., Rahman, M.A. 2017. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy. *Membrane Characterization*. 3-29.
- Nada, U. Q. 2022. Penentuan Kadar Kurkumin pada Herbal Oil dari Ekstrak Rimpang Kunyit (*Curcuma Longa L.*) dalam Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil) dengan Penambahan Surfaktan (Tween 80) Menggunakan Metode Ekstraksi Ultrasonik. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Neibaho, F.G., Priyani, N., Munir, E., dan Damanik, N.S. 2020. Isolasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan Menggunakan Media yang Mengandung Pestisida Karbosulfan. *Jurnal Jejaring Matematika dan Sains*. 2(1): 21-24.
- Ningrum, M. 2019. Optimasi Produksi Biosurfaktan Dengan Menggunakan Media Limbah Cair Kelapa Sawit Dari Bakteri Lipolitik Isolat Lokal Terpilih. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.

- Nitschke, M., Ferraz, C., and Pastore, G. M. 2004. Selection of Microorganisms for Biosurfactant Production Using Agroindustrial Wastes. *Journal of Microbiology*. 35: 81-85. Brazilian.
- Nugroho, A. 2006. Biodegradasi Sludge Minyak Bumi dalam Skala Mikrokosmos: Simulasi Sederhana sebagai Kajian Awal Bioremediasi Land Treatment. *Makara Teknol.* 10(2): 82–89.
- Nurfarahin, A. H., Mohamed, M. S., and Phang, L. Y. 2018. Culture Medium Development for Microbial-Derived Surfactants Production-An Overview. *Molecules*. 23(5). 1-26.
- Nurhayati, A. 2022. Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Indigen Isolat BSPP-1c Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Nurlaila, H. S. 2016. Optimasi Produksi Biosurfaktan dari *Pseudomonas aeruginosa* Pada Media Mengandung Solar. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Oeiyo, W.E., Simbala, H.E., dan Rotinsulu, H. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Dan Fraksi Spons *Liosina paradoxa* Dari Perairan Desa Tumbak Minahasa Tenggara Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, Dan *Candida albicans*. *PHARMACON*. 8(3): 629-638.
- Pangestu, N.S., Budiharjo, A., Rukmi, M.G.I. 2016. Isolasi, Identifikasi 16S rRNA dan Karakterisasi Morfologi Bakteri Pendegradasi Plastik Polietilen (PE). *Jurnal Biologi*. 5(2): 24-29.
- Pelczar, M. J., dan Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Penerjemah: R. S. Hadioetomo, T. Imas, S. S. Tjitrosomo. UI 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. *J. Fuel*. 111: 259–68.
- Płaza, G. A., Zjawiony, I., and Banat, I. M. 2006. Use Of Different Methods For Detection of Thermophilic Biosurfactant-Producing Bacteria from Hydrocarbon-Contaminated and Bioremediated Soils. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 50(1): 71-77.
- Rahayu, S. 2015. Pengaruh Sumber Karbon dan Nitrogen pada Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. *Skripsi*. Institut Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Rane, A. N., Baikar, V. V., Ravi Kumar, D. V., and Deopurkar, R. L. 2017. Agro-Industrial Wastes for Production of Biosurfactant by *Bacillus subtilis* ANR

88 and Its Application In Synthesis Of Silver and Gold Nanoparticles. *Frontiers in Microbiology*. 8: 1-12.

- 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.
- Rodriguez-Lopez, L., Rincon-Fontan, M., Vecino, X., Moldes, A., and Cruz Frreire, J. M. 2019. Biodegradability Study of the Biosurfactant Contained in a Crude Extract from Corn Steep Water. *Journal of Surfactants and Detergents*. 23.
- Rosi, R. M. 2022. Produksi Dan Karakterisasi Biosurfaktan dari Bakteri Lokal Isolat PKT D4 serta Studi Aktivitasnya Sebagai Antijamur. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Rukmana, S. 2015. Perbandingan Sekuen Kapang *Trichoderms sp.* Berdasarkan Internal Transcribed Spacer (ITS) rDNA dengan Menggunakan Database NCBI. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Ibrahim Malang. Malang.
- Saikia, R., Deka, R., Deka, S., and Sarma, H. 2011. Optimization of Environmental Factors for Improved Production of Rhamnolipid Biosurfactant by *Pseudomonas aeruginosa* RS29 on Glycerol. *Journal Basic Microbiol.* 51: 1–12.
- Saharan, B.S., Sahu, R.K., and Sharma, D. 2011. A Review on Biosurfactants: Fermentation, Current Developments and Perspectives. *Genetic Engineering and Biotechnology Journal*. 29.
- 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.
- Sekhon, K. K., Khanna, S., and Cameotra, S. S. 2012. Biosurfactant Production and Potential Correlation with Esterase Activity. *Journal of Petroleum and Environmental Biotechnology*. 3: 133.
- Setiani, N. A., Agustina, N., Mardiah, I., Hamdani, S., and Astriany, D. 2020. Potensi *Bacillus cereus* dalam produksi biosurfaktan Potentials of *Bacillus cereus* in biosurfactant production. *Jurnal Biologi Undayana*. 24(2): 135–141.
- Sharma, S., Verma, R., and Pandey, L.M. 2019. Crude oil degradation and biosurfactant production abilities of isolated *Agrobacterium fabrum* SLAJ731. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 21: 101322.

- Sheiscatamya, V. 2023. Produksi biosurfaktan lipopeptida dari bakteri indigen BSPP 4 asal sedimen perairan pelabuhan panjang. *Skripsi*. Universitas Lampung. Lampung.
- Shoeb, E., Badar, U., Akhter, J., Ansari, F. A., Waqar, M., and Ansari, M. A. 2012. Screening of Surfactant Producing Bacterial Galurs Isolated from Soil Samples of an Automobile Workshop. *Kar Univ Journal Sci*. 40: 31–36.
- 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.
- Singh, V. 2012. Biosurfactanti-Isolation, Production, Purification, and Significance. *Int Journal Sci Res Pub*. 2(7): 1–4.
- Soo, L., Basri, M., Saleh, A. B., and Kamaruddin, K. 2003. Optimization of the Enzyme Catalyzed Synthesis of Amino Acid Based Surfactants from Palm Oil Fractions. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 95: 361–368.
- Silhavy, T.J., Kahne, D., and Walker, S. 2010. The Bacterial Cell Envelope. Cold Spring Harb Perspect in Biology: *Cold Spring Harb Lab Press*. 2: 1-16.
- Suwansukho, P., Rukachisirikul, V., Kawai, F., and H-Kittikun, A. 2008. Production and Applications of Biosurfactant from *Bacillus subtilis* MUV4. *Songklanakar J. Sci. Technol*. 30: 87-93.
- Tahzibi, A., Kamal, F., and Mazaheri Assadi, M. 2004. Improved Production of Rhamnolipid by a *Pseudomonas aeruginosa* Mutant. *Iranian Biomedical Journal*. 8.
- Techaoei, S., Lumyong., Prathumpai, P., Santiarwarn, D., and Leelapornpisid. 2011. Screening Characterization and Stability of Biosurfactant Produced by *Pseudomonas aureginosa* SCMU106 Isolated from Soil in Northern Thailand. *Asian Journal of Biological Sciences*. 4(4): 340-35.
- Waghmode, S., Swami, S., Sarkar, D., Suryavanshi, M., Roachlani, S., Choudhari, P., and Satpute, S. 2020. Exploring the Pharmacological Potential of Biosurfactant Derived from *Planococcus maritimus* SAMP MCC 3013. *Current Microbiology*. 77(3): 452–459.
- Warsinah, E.K., dan Sunarto. 2011. Identifikasi Senyawa Antifungi dari Kulit Batang Kecapi (*Sandoricum koetjape*) dan Aktivitasnya terhadap *Candida albicans*. *Majalah Obat Tradisional*. 16(3):165-173.
- Wibisana, A. 2018. Isolasi dan Skrining Mikroba Penghasil Biosurfaktan dari Air Laut yang Tercemar Minyak. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*. 2(2): 11–18.

- Wibisana, A., Sumaryono, W., Sudiro, T.M., and Sudarmono, R.P. 2015. Optimization of Surfactin Production by *Bacillus amyloliquefaciens* MD4-12 using Response Surface Methodology. *Microbiologi Indonesia*. 9(3): 120-128.
- Widjajanti, H., Ridho, M., dan Munawar. 2008. Upaya Rehabilitasi Hutan Mangrove: Studi Modelling Bioremediasi Menggunakan Agen Biologis *Indigenous* untuk Menurunkan Bahan Pencemar di Hutan Mangrove Wilayah Propinsi Sumatera Selatan. *Laporan Penelitian Universitas Sriwijaya*. 1–41.
- Yakimov, M., Timmis, K., Wray, V., and Fredrickson, H. L. 1995. Characterization of a New Lipopeptide Surfactant Produced by Thermotolerant and Halotolerant Subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50. *Applied and Environmental Microbiology*. 61: 1706–1713.
- Yuliana, C., Hertadi, R., dan Wahyuningrum, D. 2019. Produksi dan Optimasi Biosurfaktan dari Bakteri Halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18. *CHEESA*. 2(2): 56–65.
- 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.