



Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Isolat Lokal Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang, Lampung

Nurhasanah*, Vezhia Sheiscatamya, Syaiful Bahri, Aspita Laila,
Agung A.Kiswandono, Ni Luh G.R. Juliasih

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung, Jl. Sumantri Brojonegoro No. 1 Gedung Meneng,
Bandar Lampung, 35154, Indonesia

*Email koresponden: nur.hasanah@fmipa.unila.ac.id

Abstrak

Biosurfaktan merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri, jamur dan ragi sebagai produk ekstraseluler. Keunggulan biosurfaktan yaitu memiliki tingkat toksisitas yang rendah dan bersifat *biodegradable*. Saat ini, biosurfaktan banyak digunakan dalam berbagai bidang industri seperti kosmetik, makanan, pertanian, pembersih, bioremediasi lingkungan dan agen antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi optimum produksi biosurfaktan dari bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung. Metode yang digunakan meliputi peremajaan bakteri, optimasi pertumbuhan meliputi variasi konsentrasi sumber karbon, variasi konsentrasi sumber nitrogen, variasi pH dan variasi kadar salin. Identifikasi terhadap bakteri isolat lokal dilakukan dengan metode 16S rRNA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang dapat menghasilkan biosurfaktan pada kondisi optimum sumber karbon gliserol 3%, sumber nitrogen NaNO_3 0,6%, pH 7 dan kadar salin 0,3% dengan nilai indek emulsi (IE_{24}) 75%, uji *oil spreading* 3,5 cm dan uji *drop collapse* positif. Identifikasi molekular terhadap bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung menunjukkan nilai identitas maksimum 100% dengan *Bacillus cereus*. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang Lampung yang merupakan jenis *Bacillus cereus* memiliki potensi untuk menghasilkan biosurfaktan dengan kondisi optimum produksi 3% gliserol, 0,6% NaNO_3 , pH 7 dan kadar salin 0,3 %.

Kata Kunci: biosurfaktan, sedimen, Pelabuhan Panjang Lampung, *Bacillus cereus*

PENDAHULUAN

Biosurfaktan merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri, jamur dan ragi sebagai produk ekstraseluler. Senyawa biosurfaktan memiliki gugus hidrofilik dan hidrofobik sehingga dapat berperan dalam menurunkan tegangan permukaan (Elazzazy *et al.*, 2015). Biosurfaktan memiliki keuntungan dibanding surfaktan sintesis diantaranya tingkat toksisitas yang rendah dan bersifat *biodegradable*. Saat ini, biosurfaktan banyak digunakan dalam berbagai bidang industri seperti kosmetik, makanan, pertanian, pembersih, bioremediasi lingkungan dan agen antimikroba. Produksi biosurfaktan dari berbagai mikroorganisme tergantung dari jenisnya, kondisi pertumbuhan seperti sumber karbon, sumber nitrogen, pH, temperatur dan salinitas (Ciccyliona & Nawfa, 2012). Beberapa mikroorganisme dapat menghasilkan surfaktan pada saat tumbuh pada berbagai substrat yang berbeda, mulai dari karbohidrat sampai hidrokarbon.

Untuk menentukan hasil dan struktur dari biosurfaktan perlu dilakukan pemilihan sumber karbon yang baik. Pemilihan substrat sebagai sumber karbon harus diperhatikan karena sumber karbon yang digunakan akan berpengaruh pada komposisi biosurfaktan yang dihasilkan dan jalur reproduksinya (Banat *et al.*, 2000). Sumber karbon berperan penting untuk meningkatkan energi biosintesis (Naiola dan Widhyastuti, 2002). Sumber nitrogen merupakan salah satu komponen yang dapat divariasikan untuk mendapatkan produksi biosurfaktan yang optimal. Sumber nitrogen berperan untuk mengontrol pH dalam medium. Beberapa sumber nitrogen organik seperti asam aspartat, asam glutamat, asparagin, dan glisin dapat meningkatkan produksi biosurfaktan pada *Arthrobacter paraffineus*. Nitrat mampu meningkatkan produksi biosurfaktan pada *Pseudomonas aeruginosa* dan *Rhodococcus* sp. (Desai and Banat, 1997). Kondisi lingkungan juga dapat mempengaruhi pertumbuhan dan hasil produksi biosurfaktan. Faktor-faktor yang berpengaruh pada produksi biosurfaktan antara lain temperatur, pH, salinitas, agitasi, dan ketersediaan oksigen. Kenaikkan atau penurunan temperatur besar kemungkinan dalam mengubah metabolisme mikroba (Akbar, 2004).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa bakteri *Pseudomonas aeruginosa* mampu menghasilkan biosurfaktan dengan menggunakan sumber karbon yang berasal dari glukosa (Batubara 2011). Produksi biosurfaktan dari *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18 meningkat secara signifikan dengan menggunakan sumber nitrogen yang berasal dari urea (Wahyuningrum, dkk., 2019). Berbagai variasi konsentrasi sumber karbon pada gliserol yakni 2, 3, 5, dan 7% dan variasi sumber nitrogen menggunakan NaNO₃, ammonium sulfat, pepton, ragi sirup jagung dengan variasi konsentrasi (0,05; 0,1; 0,2; 0,4 dan 0,6%) menunjukkan produksi biosurfaktan yang optimal pada 3% gliserol dan 0,6% NaNO₃ (Silva, 2010).

Studi terhadap mikroba isolat lokal dari perairan Pelabuhan Panjang dalam kemampuannya menghasilkan biosurfaktan telah dilakukan dan diperoleh beberapa isolat yang memiliki potensi cukup tinggi ditunjukkan dari nilai Indeks Emulsi (IE₂₄) > 50 % (Citra dan Nurhasanah, 2021). Beberapa mikroba isolat lokal juga telah dipelajari kondisi pertumbuhannya dalam menghasilkan biosurfaktan dengan memvariasikan sumber nitrogen (Yusnidar, dkk., 2022). Bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang Lampung yang diberi kode BSPP-4 secara morfologi memiliki bentuk basil (batang, memiliki spora, dan termasuk ke dalam bakteri gram positif. Namun, isolat bakteri ini belum diketahui spesiesnya serta kondisi optimumnya dalam menghasilkan biosurfaktan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kondisi optimum produksi biosurfaktan dari bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang dengan memvariasikan konsentrasi sumber karbon, nitrogen, pH, dan kadar salinitas. Selain itu dilakukan juga identifikasi molekular menggunakan 16S rRNA untuk mengetahui species mikroba isolat lokal asal sedimen Perairan Pelabuhan Panjang yang memiliki kemampuan menghasilkan biosurfaktan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Adapun bahan- bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang (Isolat BSPP 4), *nutrient agar*, *nutrient broth*, akuades, kapas, kasa, gliserol, natrium nitrat (NaNO₃), oli bekas, pelumas, dan *mineral salt medium* (MSM) yang meliputi KH₂PO₄, K₂HPO₄, (NH₄)₂SO₄, NaCl, FeSO₄.7H₂O, MgSO₄.7H₂O, CaCl₂.2H₂O, dan MnSO₄.H₂O.

Peremajaan Bakteri Isolat Lokal Asal Sedimen Perairan Pelabuhan Panjang

Peremajaan bakteri isolat lokal dilakukan pada media *nutrient agar* (NA) dengan menginokulasikan 1 ose isolat bakteri asal sedimen Pelabuhan Panjang (BSPP-4) dengan metode gores zig-zag, dan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C.

Identifikasi Bakteri dengan Metode 16S-rRNA

Identifikasi molekuler dari bakteri isolat lokal (BSPP-4) dilakukan dengan metode 16S rRNA. Proses Isolasi DNA, PCR dan sekuensing dilakukan di laboratorium LT-SIT Universitas Lampung. DNA genom diisolasi dari kultur murni dan digunakan untuk amplifikasi gen 16S rRNA. Amplifikasi gen 16S rRNA dilakukan menggunakan primer universal dengan kondisi reaksi PCR yang telah ditentukan. Produk PCR yang diperoleh dimurnikan dan ditentukan urutan nukleotidanya. Urutan nukleotida yang diperoleh kemudian dianalisis dan disejajarkan dengan urutan gen 16S rRNA dari kelompok prokariot yang tersedia di basis data GenBank menggunakan menu blast (BLAST-n). Hasil yang diperoleh kemudian dilakukan analisis filogenetik menggunakan software MEGA 11.

Optimasi Produksi Biosurfaktan

Variasi Sumber Karbon

Sumber karbon yang digunakan pada penelitian ini yaitu gliserol. Optimasi sumber karbon gliserol dilakukan dengan variasi 3%, 5%, dan 7%. Inokulum dari media NB ditambahkan ke dalam masing-masing media MSM ke dalam erlenmeyer yang telah disteril. Media MSM tersebut diinkubasi menggunakan *shaker* dengan kecepatan 110 rpm selama 96 jam. Media yang telah diinkubasi kemudian dilakukan uji indeks emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Nugroho, 2006).

Optimasi Variasi Sumber Nitrogen

Sumber nitrogen yang digunakan pada penelitian ini adalah NaNO₃. Optimasi dilakukan untuk mengetahui kondisi optimum dari variasi konsentrasi sumber nitrogen. Penelitian ini menggunakan sumber nitrogen yaitu NaNO₃ dengan variasi 0,4%, 0,6%, dan 0,8%. Inokulum dari media NB ditambahkan ke dalam masing-masing media MSM ke dalam erlenmeyer yang telah disteril. Media MSM tersebut diinkubasi menggunakan *shaker* dengan kecepatan 110 rpm selama 96 jam. Media yang telah diinkubasi kemudian dilakukan uji indeks emulsifikasi, uji *oil spreading*, dan uji *drop collapse* (Nugroho, 2006).

Optimasi Variasi pH

Optimasi pH dilakukan dengan membuat variasi pH media MSM menjadi pH 6,7, 8 dengan menambahkan larutan NaOH 1 N dan HCl 1 N. Media MSM ditambahkan sumber karbon dan sumber nitrogen yang telah optimum. Inokulum dari media NB ke dalam setiap variasi pH media MSM. Media MSM tersebut diinkubasi menggunakan *shaker* dengan kecepatan 110 rpm selama 96 jam. Setelah itu dilakukan uji biosurfaktan yang meliputi uji emulsifikasi, uji *drop collapse* dan uji *oil spreading* (Yakimov, *et al.*, 1995).

Optimasi Variasi Kadar Salinitas

Penentuan salinitas media dilakukan pada kondisi pH optimum dengan variasi

konsentrasi garam, 0,1%; 0,3%; 0,5%. Media MSM ditambahkan sumber karbon, sumber nitrogen, dan pH yang telah optimum. Kultur bakteri pada media inokulum diambil sebanyak 7,5% dan dimasukkan ke dalam setiap media MSM dengan salinitas yang berbeda. Selanjutnya media di-shaker menggunakan kecepatan 110 rpm suhu 30°C pada waktu yaitu 96 jam. Variasi konsentrasi salinitas masing-masing dilakukan uji biosurfaktan yang meliputi uji emulsifikasi, uji oil spreading dan uji drop collapse (Dhail, 2012).

Uji Biosurfaktan

Uji emulsifikasi

Uji emulsifikasi dilakukan untuk mengetahui kemampuan biosurfaktan dalam mengemulsikan lapisan lemak. Kultur cair bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatan dan pelet terpisah. Supernatan dicampur dengan oli bekas di dalam tabung reaksi dengan perbandingan 1:1 (2 mL supernatan dicampur dengan 2 mL oli bekas).

Campuran divorteks selama 2 menit dan selanjutnya didiamkan 24 jam sehingga terbentuk emulsi yang stabil dan dihitung nilai emulsifikasinya (Pereira *et al.*, 2013).

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

Uji oil spreading

Uji oil spreading digunakan untuk mengetahui aktivitas biosurfaktan dari bakteri yang diuji, dengan mengamati kemampuan bakteri dalam menghilangkan lapisan minyak pada permukaan air. Sebelum melakukan uji kultur cair bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatant dan pelet terpisah. Akuades dimasukkan ke dalam cawan petri sebanyak 20 mL diikuti dengan penambahan pelumas hingga membentuk lapisan tipis pada permukaan akuades. Supernatan dari kultur bakteri kemudian ditambahkan sebanyak 1 tetes ke permukaan pelumas. Hasil positif ditandai dengan memisahkannya minyak dan membentuk zona bening (Gozan *et al.*, 2014).

Uji drop collapse

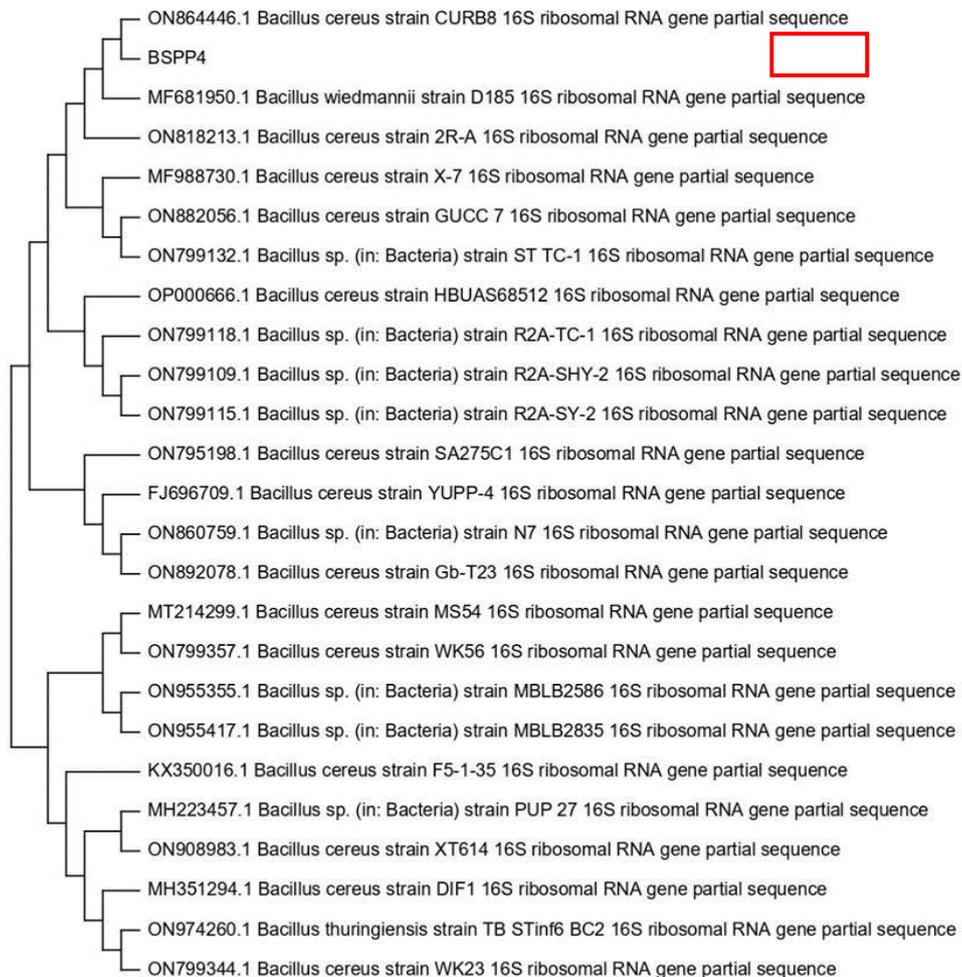
Uji drop collapse merupakan uji cepat untuk mengetahui adanya aktivitas biosurfaktan dari bakteriyang diuji. Kultur cair bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit sehingga supernatant dan pelet terpisah. Uji ini dilakukan dengan meneteskan 1 tetes oli ke dalam cawan petri, kemudiandidiamkan beberapa saat pada suhu ruang. Supernatan ditambahkan sebanyak 1 tetes ke permukaan tetesan oli. Bentuk tetesan pada permukaan minyak diamati. Hasil dinyatakan positif apabila tetesan berubah menjadi datar atau melebar, sedangkan tetesan yang tetap berbentuk bulat dinyatakan negatif (Plaza *et al.*, 2006).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identitas Molekular Bakteri isolat lokal asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung

Identifikasi molekular suatu bakteri berdasarkan urutan 16SrRNA merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk menentukan hubungan kedekatan suatu mikroba pada tingkat spesies terhadap data base dari mikroba yang sudah disimpan pada Gen Bank. Pada penelitian ini sampel bakteri isolate lokal (BSPP 4) asal sedimen

perairan Pelabuhan Panjang, Lampung telah berhasil diidentifikasi menggunakan metode 16S rRNA. Berdasarkan hasil penentuan urutan nukleotida gen 16S rRNA dan perbandingan dengan data base NCBI melalui BLASTn, menunjukkan bahwa isolat BSPP 4 memiliki percent identity sebesar 100% terhadap *Bacillus cereus*. Hasil analisis filogenetik menggunakan *software* MEGA 11 memperlihatkan adanya hubungan kekerabatan bakteri isolat lokal BSPP 4 ini terdekat dengan *Bacillus cereus* CURB8(ON864446.1) seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Pohon filogenetik dari bakteri isolat lokal (BSPP 4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung

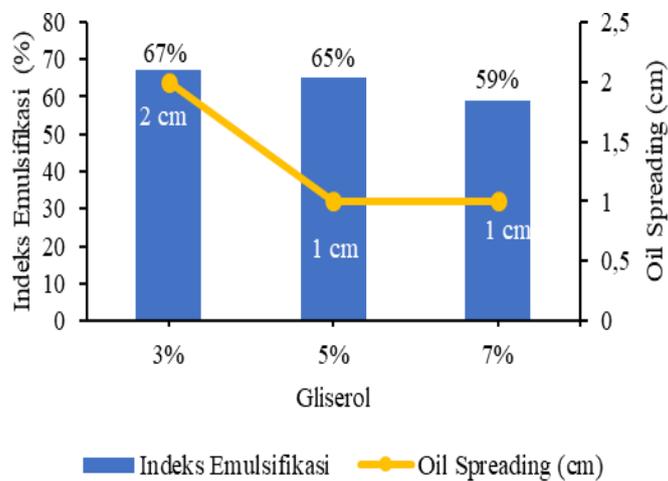
Hasil analisa urutan gen 16S rRNA yang diperoleh dari bakteri isolate lokal asal (BSPP4) asal sedimen ini memperkuat data hasil uji morfologi dan biokimia yang telah diperoleh pada studi pendahuluan yang telah dilakukan. Hasil uji morfologi memperlihatkan bahwa bakteri ini merupakan jenis bakteri Gram positif, berbentuk bacil dan hasil uji katalase menunjukkan positif ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung oksigen yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut termasuk bakteri aerob. Berdasarkan hasil yang diperoleh baik dari data morfologi, uji biokimia dan data urutan 16S rRNA dapat disimpulkan bahwa bakteri isolate lokal (BSPP4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang Lampung merupakan bakteri *Bacillus cereus*.

Kondisi Optimum Produksi Biosurfaktan

Untuk mendapatkan kondisi optimum bakteri isolate lokal (BSPP4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung dalam memproduksi biosurfaktan dilakukan optimasi pada variasi konsentrasi sumber karbon, sumber nitrogen, pH dan kadar salin. Pada penelitian ini sebagai sumber karbon dan nitrogen digunakan gliserol dan natrium nitrat.

Variasi konsentrasi sumber Karbon

Sumber karbon memiliki peran penting dalam produksi biosurfaktan dari suatu mikroba karena dapat digunakan untuk meningkatkan energi biosintesisnya. Pada penelitian ini digunakan sumber karbon gliserol dengan variasi konsentrasi 3%, 5%, dan 7%. Penentuan sumber karbon optimum ditentukan berdasarkan uji biosurfaktan yaitu uji emulsifikasi, *oil spreading*, dan drop collapse. Hasil pengujian dapat dilihat pada Gambar 2.



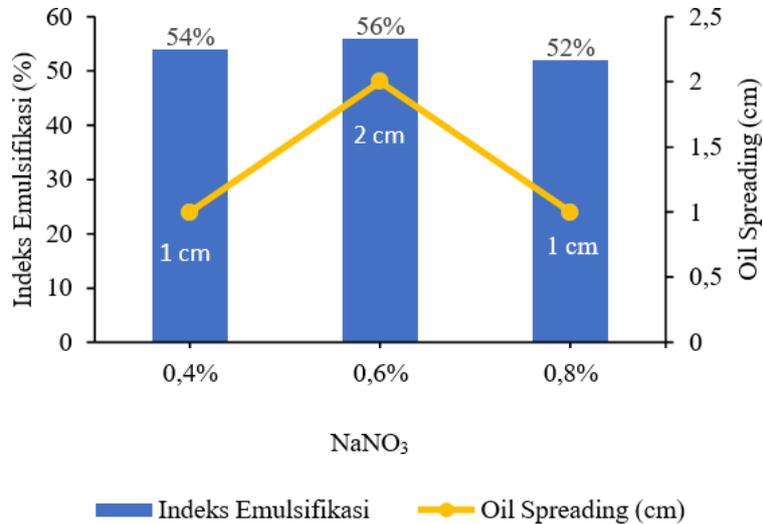
Gambar 2. Variasi Konsentrasi Sumber Karbon Gliserol

Berdasarkan hasil yang diperoleh terlihat bahwa bakteri isolat lokal (BSPP4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang menunjukkan kondisi optimum pada gliserol 3% dengan nilai indeks emulsifikasi sebesar 67%, zona bening sebesar 2 cm dan uji *drop collapse* positif. Kondisi optimum yang diperoleh ini serupa dengan yang dilaporkan oleh peneliti sebelumnya yang juga menggunakan variasi konsentrasi sumber karbon gliserol 2%;3%;4%;5% dan 6% dengan nilai indeks emulsi (IE24) optimum sebesar 53,33% pada konsentrasi gliserol 3% (Putri dan Hertadi, 2015). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan hasil yang relative lebih baik yaitu optimum pada konsentrasi gliserol 3% dengan nilai (IE24) 67%. Kemampuan bakteri menggunakan karbon dapat menentukan kualitas dan kuantitas dari biosurfaktan yang dihasilkan sehingga menyebabkan aktivitas emulsifikasi yang berlainan serta perbedaan kemampuan dalam menurunkan tegangan permukaan kultur.

Variasi konsentrasi sumber Nitrogen

Sumber nitrogen merupakan salah satu komponen yang dapat divariasikan untuk mendapatkan produksi biosurfaktan yang optimal. Sumber nitrogen berperan untuk mengontrol pH dalam medium. Pada penelitian ini sebagai sumber nitrogen digunakan

NaNO₃ dengan variasi konsentrasi yaitu 0,4%, 0,6%, dan 0,8%. Penentuan sumber nitrogen optimum dapat dilihat berdasarkan uji emulsifikasi, *oil spreading*, dan *drop collapse*. Hasil optimasi sumber nitrogen dalam memproduksi biosurfaktan dapat dilihat pada Gambar 3.



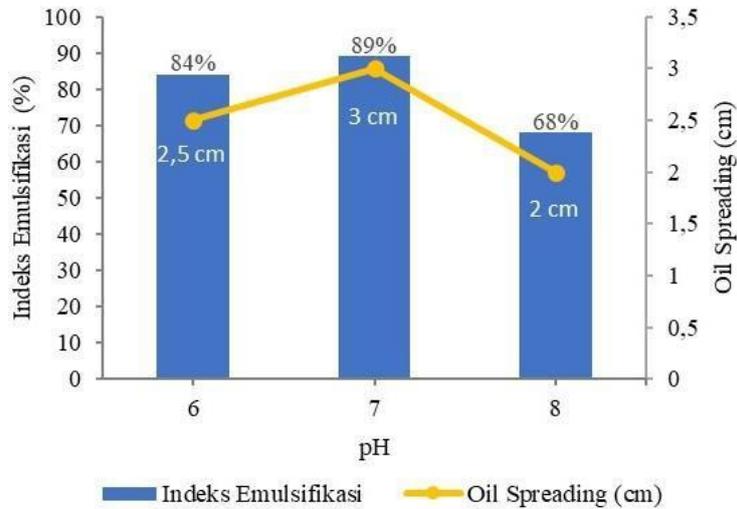
Gambar 3. Variasi Konsentrasi Sumber Karbon Natrium Nitrat

Berdasarkan hasil yang diperoleh terlihat bahwa pada konsentrasi NaNO₃ 0,6% memberikan nilai indeks emulsi optimum 56%, zonabening 2 cm dan *drops collapse* positif. Beberapa penelitian terkait pemberian nitrat sebagai sumber nitrogen dalam produksi biosurfaktan telah dilaporkan diantaranya pada pertumbuhan *Lysinibacillus spaerichus* dalam medium ammonium nitrat memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan urea sebagai sumber nitrogen (Sandri dkk., 2009). Hal serupa yang dilaporkan oleh Utami dkk. (2020) dimana produksi biosurfaktan dilakukan dengan menggunakan NaNO₃ 0,3% dan menghasilkan zona bening sebesar 1 cm.

Variasi pH

pH merupakan salah satu faktor lingkungan yang berperan penting dalam produksi biosurfaktan. Jika pH lingkungan tidak sesuai maka mikroba tidak dapat melakukan proses metabolisme dengan baik sehingga tidak dapat tumbuh dengan optimal. Pada penelitian ini variasi pH yang digunakan yaitu pH 6, 7, dan 8. Hasil pengujian terhadap indeks emulsi, *oil spreading* dan *drops collapse* pada berbagai pH dapat dilihat pada Gambar 4.

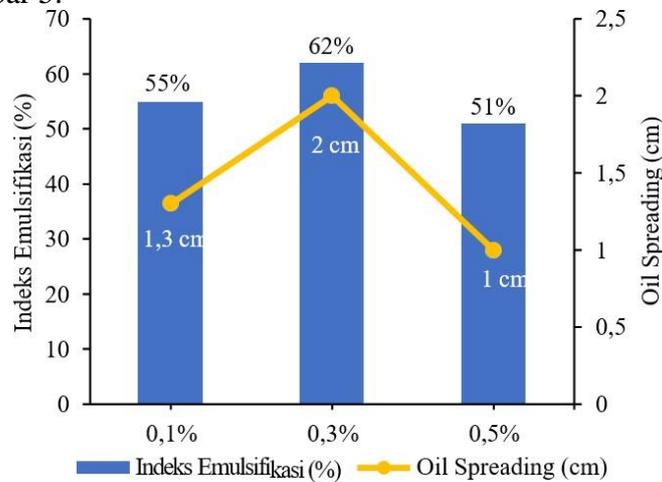
Berdasarkan data pada Gambar 4 terlihat bahwa kondisi optimum bakteri isolat lokal (BSPP 4) asal sedimen Perairan Pelabuhan Panjang dalam menghasilkan biosurfaktan yaitu pada pH 7 dengan nilai indeks emulsifikasi sebesar 89%, zona bening 3 cm dan uji *drop collapse* positif. Kondisi pH optimum dalam memproduksi biosurfaktan yang diperoleh ini sama dengan yang dihasilkan oleh bakteri *Serratia marcescens* dengan variasi pH 6, 7, dan 8 dan memberikan hasil terbaik pada pH 7 dengan nilai indeks emulsi sebesar 49,56% (Damayanti dkk., 2022). Menurut Purwasena dkk, (2021), pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan yang baik yaitu pada pH 6,0 - 7,2. Suasana yang asam dan alkalis tidak baik bagi pertumbuhan bakteri penghasil biosurfaktan.



Gambar 4. Variasi pH

Variasi kadar salinitas

Salinitas merupakan faktor penting lainnya dalam produksi biosurfaktan. Salinitas berfungsi membantu konsentrasi mineral di dalam sel. Kondisi salinitas yang terganggu akan mempengaruhi pertumbuhan sel dan biosurfaktan yang dihasilkan (Budiarti, 2020). Penelitian ini menggunakan variasi kadar salinitas yaitu 0,1%, 0,3%, dan 0,5%. Penentuan kadar salinitas optimum dapat dilihat berdasarkan uji biosurfaktan yaitu uji emulsifikasi, *oil spreading*, dan uji *drop collapse*. Hasil pengujian terhadap variasi kadar salinitas dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Variasi Kadar Salinitas

Berdasarkan data pada Gambar 5 dapat terlihat bahwa kondisi optimum diperoleh pada kadar salinitas sebesar 0,3% dengan nilai indeks emulsi sebesar 62%, uji zona bening sebesar 2 cmdan uji *dropcollapse* positif dibandingkan terhadap kadar salinitas 0,1% dan 0,5%.

Kondisi optimum yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk tahap produksi biosurfaktan dari bakteri isolat lokal (BSSP 4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang,

Lampung yaitu pada kondisi sumber karbon gliserol 3%, sumber nitrogen NaNO_3 0,6%, pH 7 dan kadar salin 0,3%. Produksi juga dilakukan dengan konsentrasi inokulum 7,5% dan waktu pertumbuhan 96 jam, seperti yang didapatkan pada studi pendahuluan sebelumnya. Hasil yang diperoleh pada tahap ini disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Biosurfaktan dari Bakteri Isolat lokal (BSPP 4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung pada kondisi optimum

Uji Biosurfaktan	Hasil	Gambar
Indeks Emulsifikasi (IE_{24})	75%	
<i>Oil Spreading</i>	3,5 cm	
<i>Drop Collapse</i>	(+)	

Berdasarkan data pada Tabel 1. dapat terlihat bahwa bakteri isolat lokal (BSPP 4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung dapat menghasilkan biosurfaktan yang ditandai dengan terbentuknya emulsi dengan nilai Indeks emulsi sebesar 75%. Hasil uji *oil spreading* memperlihatkan adanya zona bening dengan diameter sebesar 3,5 cm dan uji *drop collapse* positif.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan:

1. Berdasarkan hasil analisis urutan gen 16S rRNA dan analisis pohon phylogenetic menunjukkan bahwa bakteri isolat lokal (BSPP 4) asal sedimen perairan Pelabuhan Panjang, Lampung merupakan bakteri *Bacillus cereus*.
2. Bakteri isolat BSPP 4 mampu memproduksi biosurfaktan pada kondisi optimum yaitu sumber karbon gliserol 3%, sumber nitrogen NaNO_3 0,6%, pH 7, dan kadar salinitas 0,3%.
3. Produksi biosurfaktan pada kondisi optimum gliserol 3%, NaNO_3 0,6 %, pH 7 dan kadar salin 0,3 % dengan waktu pertumbuhan 96 jam dan konsentrasi inokulum 7,5% memberikan nilai Indeks Emulsi (IE_{24}) 75%, zona bening 3,5 cm dan uji *drop collapse* positif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Lampung melalui Hibah Terapan DIPA BLU dengan No. Kontrak: 804/UN26.21/PN/2023. Terimakasih juga kepada UPT-LTSIT Universitas Lampung atas bantuannya dalam melakukan analisis molekular 16SrRNA juga kepada mahasiswa S1 prodi kimia yang tergabung dalam riset biosurfaktan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, M. A. 2004. Optimasi Sumber Karbon dan Konsentrasi Pada Produksi Biosurfaktan Oleh Bakteri Isolat 1G dari Tarakan (Tesis). Fakultas Teknologi Industri. Institut Teknologi Bandung. Bandung.
- Banat, I. M., Makkar, R. S., and Cameotra, S. S. 2000. Potential Commercial Applications of Microbial Surfactants. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 53(5):495-508.
- Batubara, N. R. 2011. Optimasi produksi biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan variasi sumber karbon dan nitrogen medium. (Skripsi). Universitas Sumatera Utara. Medan
- Budiarti RS. 2000. Optimasi Konsentrasi Crude Oil dan Sumber Nitrogen Pada Produksi Biosurfaktan oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik. (Tesis). Intitut Teknologi Bandung. Bandung.
- Ciccyliona, D. Y., dan Nawfa, R. 2012. Pengaruh pH terhadap Produksi Biosurfaktan Oleh Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* Lokal. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 1(2):1-6.
- Citra, S., dan Nurhasanah. 2021. Skrining Bakteri Penghasil Biosurfaktan Dari Air Laut Tercemar Minyak Di Pelabuhan Panjang Lampung. *Rafflesia Journal of Natural and Applied Sciences (RJNAS)*. Vol. 1 (1) (2021), 50-58
- Damayanti, B., Sumardi, S., Arifiyanto, A., Handayani, K., Kanedi, M., Handerlin, Putri, M., dan Lukyta, R.R.C. 2022. Pengaruh Media Pertumbuhan dan pH Terhadap Aktivitas Biosurfaktan dari Bakteri *Serratia marcescens* strain MBC1 pada Minyak Jelantah. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)*. 5(1):1-8.
- Desai, J. D. and Banat, I. M. 1997. Microbial Production of Surfactants and Their Commercial Potential. *J. Microbiol and Molecular Biol*. 5(2):47-64.
- Dhail, S. 2012. Isolation of Potent Biosurfactant Producing Bacteria from Oil Spilled Marine Water and Marine Sediments. *African Journal of Biotechnology*. 11(103):16751-16757
- Elazzazy, A. M., Abdelmoneim, T. S., and Almaghrabi, O. A. 2015. Isolation and Characterization of Biosurfactant Production Under Extreme Environmental Conditions by Alkali-Halo-Thermophilic Bacteria from Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22(4):466-475.
- Gozan, M., Izzah, N. F., Cut, N., dan Abdul, H. 2014. Produksi Biosurfaktan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dengan Substrat Limbah Biodiesel Terozonasi Untuk Peningkatan Perolehan Minyak Bumi. *Jurnal Warta Industri Hasil Pertanian*. 31(2):39-44.
- Naiola, E., dan Widhyastuti, N. 2002. Isolasi, Seleksi dan Optimasi Produksi Protease dari Beberapa Isolat Bakteri. *Jurnal Berita Biologi*. 6(3):467-47
- Nugroho, A. 2006. Biosurfactan Production of Hydrocarbon User Bacteriayy Adding Carbon Resources Variation. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*.

7(4):312-316.

- 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(1):259-268.
- Plaza, 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.
- Putri, M., dan Hertadi, R. 2015. Effect of Glycerol as Carbon Source for Biosurfactant Production by Halophilic Bacteria *Pseudomonas stutzeri* BK-AB12. *Procedia Chemistry*. 16(1):321-327.
- Purwasena, I. A., Astuti, D. I., & Utami, S. G. 2020. Nitrogen optimization on rhamnolipid biosurfactant production from *pseudoxanthomonas* sp. G3 and its preservation techniques. *Sains Malaysiana*, 49(9), 2119–2127.
- Sandri, D. 2009. Bakteri Hidrokarbonoklastik Tanah Tercemar Penghasil Biosurfaktan: Skrining dan Identifikasi Bakteri, Optimasi Produksi dan Karakterisasi Produknya. (Tesis). Universitas Brawijaya. Malang
- Wahyuningrum, D., Hertadi, R., dan Yuliana, C. 2019. Produksi Optimasi Biosurfaktan dari Bakteri Halofilik *Chromohalobacter japonicus* BK-AB18. *Chemical Engineering Research Article*. 2(2).Hal. 56-65
- Yakimov MM., Timmis KN., Wray, and Fredrickson HL. 1995. Characterization of a new lipopeptidesurfactant produced by Thermotolerant and Halotolerant Subsurface *Bacillus licheniformis* BAS50. *J Appl Environ Microbiol*. 61(5):1706-1713.
- Yusnidar, M., Laila, A., Nurhasanah, Bahri, S., Juliasih, N.L.G.R. 2021. Optimasi Produksi Biosurfaktan dari Bakteri Isolat ALP E1 Air Laut Pelabuhan Panjang dengan Variasi Sumber Nitrogen. Prosiding Seminar Nasional SMIAP VI. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Lampung