

# Isolasi dan Karakterisasi Mikroba *Indigenus* Penghasil Biosurfaktan dari *Eco-enzyme*

## *Isolation and Characterization of Indigenous Biosurfactant Producing Microbes from Eco-Enzyme*

Nastiti Trikurniadewi<sup>1</sup>✉, Anindi Lupita Nasyanka<sup>2</sup>, Farida Nur'aini<sup>1</sup>, Rikha Anggun Novitasari<sup>1</sup>; Arha Addina Illahi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Sarjana Terapan Teknologi Laboratorium Medis, Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Gresik, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Kesehatan Universitas Muhammadiyah Gresik, Indonesia

### ABSTRAK

**Latar Belakang:** Biosurfaktan berpotensi sebagai alternatif pengganti surfaktan sebagai bahan tambahan formulasi obat. Keamanan produk biosurfaktan masih menjadi permasalahan dalam aplikasi biosurfaktan di bidang farmasi. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terkait biosurfaktan dari mikroba yang tidak bersifat patogen.

**Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan mikroba *indigenus eco-enzyme* yang tidak bersifat patogen dan memiliki kemampuan untuk menghasilkan biosurfaktan.

**Metode:** Penelitian bersifat observasional dan eksperimental dengan mengisolasi mikroba yang ada pada sampel *eco-enzyme* kemudian menguji kemampuannya dalam menghasilkan biosurfaktan. Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan media *De Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) dengan kondisi mikroaerofilik. Karakterisasi mikroba meliputi makroskopis, mikroskopis dan biokimia. Deteksi kemampuan isolat dalam menghasilkan biosurfaktan dievaluasi melalui uji hemolisis, uji *drop collapse*, aktivitas emulsifikasi dan tegangan permukaan.

**Hasil:** Penelitian ini mendapatkan 4 isolat potensial penghasil biosurfaktan yaitu E1, E2, E3, dan E4. Karakteristik keempat isolat berbeda secara makroskopis, mikroskopis dan biokimianya, isolat tersebut merupakan kelompok bakteri dan *yeast*. Keempat isolat menghasilkan biosurfaktan, aktifitas emulsifikasi tertinggi pada supernatan E3 sebesar 50,4%, tegangan permukaan terendah pada supernatan E1 sebesar 52,2 Nm/m, serta keempat supernatan isolat menunjukkan positif *drop collapse*.

**Kesimpulan:** Mikroba *indigenus eco enzyme* berpotensi menghasilkan biosurfaktan.

**Kata Kunci:** Bakteri; Biosurfaktan; *Eco enzyme*; Probiotik; *Yeast*

### ABSTRACT

**Background:** Biosurfactants have the potential to be used as an alternative to surfactants as additional ingredients in drug formulations. The safety of biosurfactant products is still a problem in the application of biosurfactants in the pharmaceutical field. Therefore, research is needed on biosurfactants from non-pathogenic microbes.

**Objective:** The research aims to obtain indigenous *eco-enzyme* microbes that are non-pathogenic and have the ability to produce biosurfactants.

**Methods:** This study was observational and experimental by isolating bacteria in *eco-enzyme* samples and then testing their ability to produce biosurfactants. Isolation of bacteria was carried out using *De Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) medium with microaerophilic conditions. Microbial characterization includes macroscopic, microscopic, and biochemical. Detection of the ability in biosurfactants was evaluated through hemolysis, drop collapse, emulsification activity, and surface tension tests.

**Results:** This study obtained 4 potential isolates producing biosurfactants, namely E1, E2, E3, and E4. The characteristics of the four isolates differ macroscopically, microscopically, and biochemically, the isolates were groups of bacteria and *yeast*. The fourth isolate showed biosurfactant activity, the highest emulsification activity in the E3 supernatant of 50.4%, the lowest surface tension in the E1 supernatant of 52.2 Nm/m, and the fourth supernatant isolate showed a positive drop collapse.

**Conclusion:** *Eco-enzyme indigenous* microbes have the potential to produce biosurfactants.

**Keywords:** Bacteria, Biosurfactant, *Eco-enzyme*, Probiotic, *Yeast*

✉ Corresponding author: [nastititrikurniadewi@umg.ac.id](mailto:nastititrikurniadewi@umg.ac.id)

Diajukan 16 November 2024 Diperbaiki 18 Februari 2025 Diterima 24 Februari 2025

## PENDAHULUAN

Biosurfaktan (surfaktan alami) merupakan senyawa aktif permukaan alami yang dapat dihasilkan oleh mikroorganisme di dalam sel maupun diekskresikan ke luar sel (Sharma *et al.*, 2021). Biosurfaktan bersifat amfifatik memiliki komponen yang unik dengan sisi hidrofilik dan hidrofobik menyebabkan biosurfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan, tegangan antarmuka antara larutan berair dan larutan lain yang tidak dapat bercampur seperti air dan minyak, serta dapat mengemulsi.

Beberapa penelitian telah membuktikan mikroorganisme dapat memproduksi biosurfaktan seperti bakteri *Bacillus*, *Archomobacter*, *Pseudomonas*, dan jamur *Candida*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces* (Fernandes *et al.*, 2023; Ni'matuzahroh *et al.*, 2020; Thavasi *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2022). Biosurfaktan telah diaplikasikan pada industri minyak dan gas untuk peningkatan perolehan minyak (Nikolova & Gutierrez, 2021), serta pengelolaan lingkungan, bioremediasi dan biodegradasi hidrokarbon (Ni'matuzahroh *et al.*, 2017).

Beberapa tahun terakhir, biosurfaktan banyak diteliti untuk aplikasi di bidang kesehatan. Biosurfaktan diketahui memiliki sifat antimikroba, antibiofilm, antivirus, immuno-modulator, anticancer, drug delivery agent, dan promotor penyembuhan luka (Ceresa *et al.*, 2021; Sambanthamoorthy *et al.*, 2014). Beberapa sediaan farmasi memerlukan bahan tambahan surfaktan sebagai pengemulsi atau emulgator. Biosurfaktan potensial dikembangkan sebagai alternatif pengganti surfaktan sintetis pada formulasi obat, sebab biosurfaktan memiliki toksisitas rendah, dapat terurai secara alami, dan dapat diproduksi dari substrat yang murah (Fernandes *et al.*, 2023; Ni'matuzahroh *et al.*, 2020; Wu *et al.*, 2022).

Hingga saat ini masih menjadi salah satu permasalahan dalam aplikasi

biosurfaktan pada produk farmasi yaitu umumnya produk biosurfaktan berasal dari mikroba non komensal, bukan berasal dari tubuh atau dari lingkungan dan bersifat pathogen, sehingga pemanfaatannya dinilai kurang aman untuk dikonsumsi maupun diaplikasikan pada tubuh. Salah satu faktor penting dalam produksi biosurfaktan untuk industri farmasi yaitu harus diproduksi oleh organisme *non-pathogenic* dan aman untuk menghindari masalah yang berasal dari patogenitas (Ghasemi *et al.*, 2019).

Salah satu kelompok mikroba yang tidak bersifat patogen bagi tubuh adalah probiotik. Probiotik merupakan organisme hidup yang dapat memberikan manfaat bagi kesehatan manusia diantaranya ada yang menghasilkan antimikroba untuk melawan patogen di dalam tubuh. Beberapa mikroba probiotik antara lain *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia* (Fijan, 2014). Pencarian isolat potensial penghasil biosurfaktan terus dikembangkan, beberapa kandidat mikroba probiotik telah diteliti mampu menghasilkan biosurfaktan (Dong *et al.*, 2019; Tabrizi Rayeni & Soltani Nezhad, 2018).

Salah satu habitat probiotik adalah di larutan fermentasi bahan organik. *Eco-enzyme* merupakan produk fermentasi limbah buah dan sayuran. Beberapa peneliti membuktikan adanya peran bakteri dalam kulit buah yang difermentasi. Dalam proses fermentasi *eco-enzyme* yang terdiri dari kulit buah pisang, jambu, manga, papaya, dan markisa terdeteksi komunitas mikroba terdiri dari Proteobacteria, Actinobacteria, dan Bacilli (Cruz *et al.*, 2019). Beberapa bakteri dari produk fermentasi memiliki kemampuan antimikroba seperti bakteri asam laktat yang dapat memproduksi bacteriocin (Mohammed & Çon, 2021).

Mikroba di dalam *eco-enzyme* belum banyak diungkap dan dieksplorasi

potensinya dalam menghasilkan biosurfaktan. *Eco-enzyme* merupakan habitat unik yang memungkinkan pertumbuhan probiotik yang menghasilkan biosurfaktan. Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat mikroba *indigenus eco-enzyme* yang memiliki kemampuan dalam menghasilkan biosurfaktan. Penelitian ini menjadi dasar pengembangan biosurfaktan yang aman sebagai alternatif pengganti surfaktan pada formulasi obat. Penelitian ini merupakan upaya untuk menghasilkan produk yang original serta mendukung kemandirian kesehatan terkait bahan baku farmasi.

## METODE

### A. Desain Penelitian

Penelitian bersifat observasional yaitu mengisolasi dan mengkarakterisasi mikroba *indigenus eco-enzyme*. Penelitian ini juga bersifat eksperimental yaitu menguji kemampuan mikroba dalam menghasilkan biosurfaktan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Gresik.

### B. Populasi dan Sampel

*Eco-enzyme* diperoleh dari kelompok masyarakat Relawan *Eco-Enzyme* Indonesia (REEI) Kabupaten Gresik. Pada penelitian ini, *eco-enzyme* digunakan sebagai sumber memperoleh mikroba potensial penghasil biosurfaktan. Mikroba yang terisolasi, kemudian ditumbuhkan pada media untuk menghasilkan biosurfaktan. Sampel biosurfaktan dari masing-masing isolat diuji pada penelitian ini.

### C. Teknik Pengambilan Data

#### 1. Isolasi Indigenus Eco-Enzyme

Metode isolasi mikroba mengacu pada (Bazireh *et al.*, 2020), 1 mL dari suspensi *eco-enzyme* diinokulasikan pada media *De Man Rogosa and Sharpe Agar* (MRSA) dan diinkubasi 24-48 jam pada suhu ruang di dalam anaerobic

jar. Isolat mikroba yang tumbuh dimurnikan dan diremajakan kembali pada media MRSA. Isolat dapat disimpan dalam lemari pendingin 4°C kemudian dilakukan uji selanjutnya.

#### 2. Karakterisasi Indigenus Eco-Enzyme

Mikroba dikarakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimia. Karakterisasi makroskopis meliputi bentuk koloni, warna, ukuran, elevasi, dan tekstur. Karakterisasi mikroskopis meliputi bentuk sel dan pewarnaan Gram (Daniati *et al.*, 2023). Karakterisasi biokimia mikroba meliputi uji katalase, oksidase, fermentasi gula.

#### 3. Uji Hemolisis

Masing-masing isolat digoreskan di atas permukaan media agar darah dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Adanya zona bening menunjukkan keberadaan biosurfaktan (Youssef *et al.*, 2004).

#### 4. Media Produksi Biosurfaktan

Media produksi biosurfaktan yang digunakan pada penelitian mengikuti (Vallejo *et al.*, 2021) media *De Man Rogosa and Sharpe broth* (MRSB) terdiri dari (g/L) 10g pepton, 8g ekstrak daging, 4g ekstrak yeast, 20g D(+)-glucose, 2g di-Potassium hydrogen phosphate, 1 ml tween 80, 2 g di-ammonium hydrogen citrate, 5g sodium asetat, 0,2g magnesium sulfat, 0,04g mangan sulfat. Larutan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 1 atm selama 15 menit

#### 5. Produksi Biosurfaktan

Masing-masing isolat disuspensikan ke dalam media MRS *broth* sebanyak 3 ose loop penuh dan diinkubasi selama 24 jam. Sebanyak 2% suspensi kultur dimasukkan ke dalam 100 mL media MRSB dalam botol kultur 100 mL, agar menjaga kondisi kultur kekurangan oksigen.

Masing-masing kultur diinkubasi selama 2 hari tanpa agitasi pada suhu  $\pm 28^{\circ}\text{C}$ .

## 6. Karakterisasi Biosurfaktan

Kultur disentrifugasi dengan 4.000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan sel bakteri dengan metabolitnya. Supernatan merupakan ekstrak kasar biosurfaktan yang akan dilakukan uji karakterisasi selanjutnya.

### 6.1 Uji *Drop Collaps*

Sebanyak 25 $\mu\text{L}$  ekstrak kasar biosurfaktan dipipet dan ditetaskan di atas permukaan parafilm, penyebaran dari droplet biosurfaktan kasar pada biofilm diamati. Hal yang sama dilakukan untuk akuades sebagai pembanding. Droplet biosurfaktan memiliki penyebaran lebih luas dibandingkan dengan akuades (Emmanuel *et al.*, 2019).

### 6.2 Aktivitas Emulsifikasi

Ekstrak kasar biosurfaktan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambah dengan kerosen dengan perbandingan 1:1 (Ni'matuzahroh *et al.*, 2017). Campuran tersebut divortex selama 2 menit, kemudian diukur aktivitas emulsifikasi (AE) (%) setelah 1 jam. Nilai aktivitas emulsifikasi (%) didapat dengan mengukur tinggi fase emulsi (cm) terhadap tinggi total cairan (cm) kemudian dikali 100%.

### 6.3 Tegangan Permukaan

Pengukuran tegangan permukaan (TP) (mN/m) ekstrak kasar biosurfaktan dilakukan menggunakan tensiometer Du-Nouy. Nilai tegangan permukaan dinyatakan dalam satuan mN/m. Akuades digunakan sebagai kontrol pada pengukuran ini. Pengukuran tegangan permukaan sampel dilakukan sebanyak tiga kali.

## D. Instrumen Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *eco-enzyme*, media kultur MRSA dan MRSB, media uji biokimia, pewarna Gram, media agar darah, parafilm dan kerosen. Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain peralatan gelas seperti tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, autoklaf, mikropipet, anaerobic jar, inkubator, sentrifus, vortex, dan tensiometer Du-Nouy.

## E. Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh berupa jenis dan karakteristik mikroba indigenus *eco-enzyme*, serta potensi biosurfaktan yang ditinjau dari uji hemolisis, uji drop collapse, uji aktifitas emulsifikasi, dan uji tegangan permukaan. Data akan dianalisis secara deskriptif dan statistik dan divisualisasikan menggunakan tabel dan grafik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Isolasi *Indigenus Eco-Enzyme*

*Eco-enzyme* diperoleh dari Relawan *Eco-Enzyme* Indonesia (REEI) Gresik yang terdiri dari 2 jenis bahan mentah yang berbeda yaitu EE1 merupakan *eco-enzyme* berbahan dasar dari campuran kulit buah pepaya, nanas, melon, semangka, jeruk, belimbing wuluh ditambahkan gula merah yang diproduksi pada tanggal 29 September 2023 (usia produk 12 bulan) dan EE2 yang merupakan *eco-enzyme* berbahan dasar campuran kulit buah nanas, jeruk, pepaya, pisang ditambahkan molase yang diproduksi pada tanggal 23 Mei 2024 (usia produk 4 bulan). *Eco-enzyme* yang dimaksud tersebut divisualisasikan pada gambar 1.

Dari kedua sampel tersebut diperoleh mikroba yang dominan sebanyak 4 isolat yang merupakan kelompok dari bakteri dan yeast. Mikroba tersebut dikode dengan nama E1, E2, E3, dan E4. Isolat E1 dan E4 diisolasi dari

sampel EE1 sedangkan isolat E2 dan E3 diisolasi dari sampel EE2.

Peneliti lain menyatakan bahwa fermentasi sayuran dan buah-buahan Asia potensial sebagai sumber probiotik antara lain bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, *L. brevis*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *Leuconostoc fallax*, dan *L. Mesenteroides* serta *yeast*. Salah satu karakteristik dari probiotik adalah memiliki kemampuan dalam menghasilkan senyawa antimikroba (Swain *et al.*, 2014). Secara alamiah buah dan sayur mengandung mikroba probiotik. Buah dan sayuran mengandung nutrisi penting seperti vitamin, mineral, karbohidrat, dan serat yang mendukung pertumbuhan dan metabolisme mikroba probiotik. Fermentasi melibatkan penurunan pH akibat produksi asam organik, terutama asam laktat. Lingkungan asam ini ideal bagi bakteri asam laktat yang

mampu bertahan hidup di kondisi tersebut (Xu *et al.*, 2018; Yang *et al.*, 2024).



Gambar 1. Eco-Enzyme yang diperoleh dari REEI Gresik yaitu EE1 dan EE2 masing-masing sebanyak 100 mL

**B. Karakterisasi *Indigenus Eco-Enzyme***

Mikroba yang berhasil diisolasi dalam kondisi mikroaerofilik (minim oksigen), kemudian dikarakterisasi berdasarkan makroskopis, mikroskopis, dan biokimianya. Hasil karakterisasi disajikan dalam Tabel 1 dan Gambar 2.

Tabel 1. Karakterisasi Mikroba *Indigenus Eco-Enzyme*

No.	Karakterisasi	Kode Isolat			
		E1	E2	E3	E4
1	<b>Makroskopis</b>				
	Warna	Putih keabuan	Putih	Putih keabuan	Putih keabuan
	Bentuk	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>
	Elevasi	<i>Convex</i>	<i>Flat</i>	<i>Flat</i>	<i>Raised</i>
	Tepi	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>
	Permukaan	<i>Smooth</i>	<i>Smooth</i>	<i>Concentric</i>	<i>Smooth</i>
	Opasitas	<i>Translucent</i>	<i>Opaque</i>	<i>Opaque</i>	<i>Opaque</i>
	Ukuran	<i>Small</i>	<i>Pinpoint</i>	<i>Large</i>	<i>Moderate</i>
2	<b>Mikroskopis</b>				
	Bentuk sel	Oval memanjang	Batang	Oval memanjang	Batang
	Pewarnaan Gram	<i>(tidak berlaku)</i>	Positif	<i>(tidak berlaku)</i>	Positif
	Endospora	Negatif	Negatif	Negatif	Positif
3	<b>Biokimia</b>				
	Fermentasi Glukosa	Positif	Positif	Negatif	Negatif
	Fermentasi Laktosa	Positif	Positif	Negatif	Negatif
	Fermentasi Sukrosa	Positif	Positif	Negatif	Negatif
	Pemanfaatan citrat	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif
	Katalase	Positif	Positif	Negatif	Negatif
	Oksidase	Negatif	Negatif	Negatif	Positif

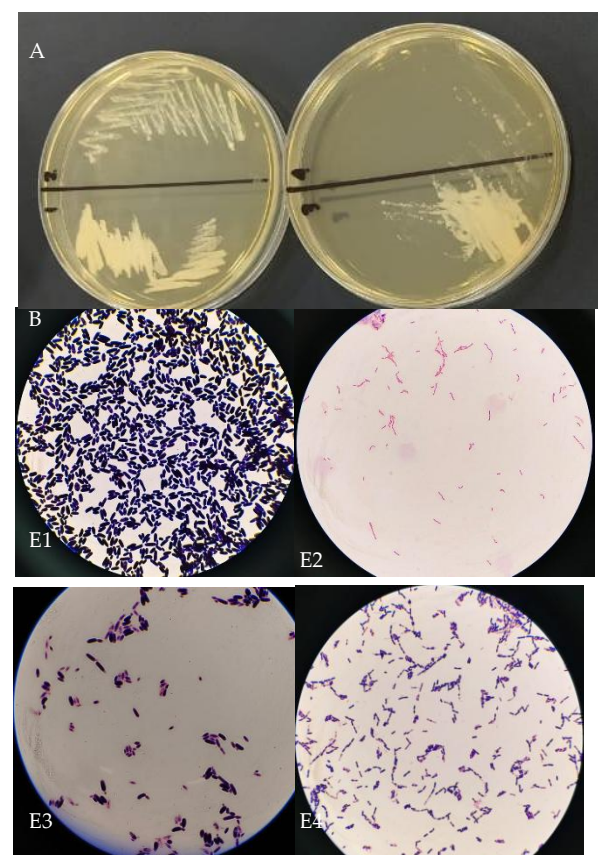
Berdasarkan *Manual for The Identification of Medical Bacteria* (Barrow & Feltham, 2003), bakteri mengarah pada kelompok *Corynebacterium* (E2) dan *Bacillus* (E4), Sedangkan berdasarkan *The Yeast a Taxonomic Study* (Kurtzman et al., 2011) yeast mengarah pada kelompok *Saccharomyces* (E1) dan *Pichia* (E3). *Corynebacterium* merupakan bakteri berbentuk batang Gram-positif, dan ketika diisolasi pada media seperti MRS agar, koloni umumnya berbentuk bulat kecil dengan permukaan halus, warna putih hingga krem, serta tekstur lengket. Di bawah mikroskop, *Corynebacterium* tampak sebagai batang berpasangan atau dalam rantai pendek. Secara biokimia, *Corynebacterium* dapat memfermentasi karbohidrat. Bakteri ini juga menunjukkan hasil positif pada uji katalase (Barrow, 2003).

Pada media agar, koloni *Bacillus* biasanya berbentuk bulat hingga tidak beraturan, dengan tepi bergelombang atau bergerigi. Warnanya bervariasi dari putih hingga krem, dan teksturnya umumnya kering atau berlendir tergantung spesiesnya. Secara mikroskopis, *Bacillus* adalah bakteri Gram-positif berbentuk batang yang dapat berpasangan atau membentuk rantai pendek. Mereka juga terlihat membentuk endospora, yang tampak sebagai area bulat atau oval yang tidak terwarnai di dalam sel bakteri pada pewarnaan Gram.

Dalam uji biokimia, *Bacillus* biasanya menunjukkan hasil katalase positif, yang membedakannya dari banyak bakteri asam laktat lainnya. *Bacillus* dapat memfermentasi berbagai sumber gula seperti glukosa dan menghasilkan asam laktat, asam asetat, serta senyawa volatil lainnya tergantung pada spesies. Beberapa spesies *Bacillus*, seperti *Bacillus subtilis*, mampu memfermentasi glukosa, manitol, dan laktosa, meskipun hasil fermentasinya dapat bervariasi. *Bacillus* berpotensi sebagai probiotik yang memberikan

manfaat bagi kesehatan (Elshaghabee et al., 2017).

*Yeast* memiliki kemampuan untuk memfermentasi berbagai jenis gula. *Saccharomyces boulardii*, misalnya, mampu memfermentasi glukosa dan menghasilkan etanol serta karbon dioksida sebagai produk utama. *Yeast* ini tidak memfermentasi laktosa, tetapi bisa memfermentasi glukosa dan maltosa. Selain itu, *S. boulardii* juga mampu menghasilkan enzim tertentu yang mendukung fungsi pencernaan. Dalam uji biokimia, *yeast* biasanya menunjukkan hasil positif untuk fermentasi alkohol, sementara hasil katalase bervariasi tergantung spesiesnya (Czerucka et al., 2007). *Saccharomyces* dan *Pichia* ditemukan selama fermentasi spontan anggur aprikot (Chen et al., 2023).



**Gambar 2. (A) koloni mikroba pada media MRS (B) mikroskopis sel mikroba indigenus eco-enzyme**

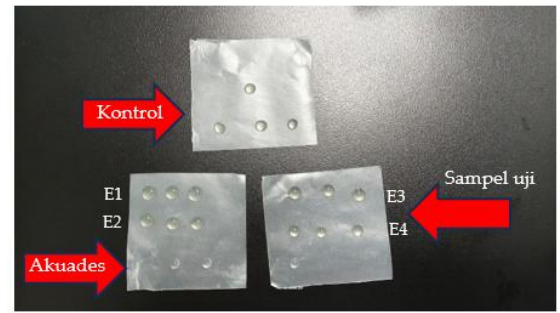
### C. Uji Hemolisis

Uji hemolisis adalah metode yang sering digunakan untuk skrining awal produksi biosurfaktan oleh mikroorganisme, termasuk bakteri dan yeast. Metode ini memanfaatkan media agar darah untuk mendeteksi aktivitas biosurfaktan berdasarkan kemampuan mikroba memecah sel darah merah. Hasil uji hemolisis menunjukkan bahwa isolat E1, E2, dan E3 menunjukkan negatif hemolisis sedangkan E4 menunjukkan positif hemolisis. Aktivitas hemolisis menjadi indikator awal dari kemampuan mikroba untuk menghasilkan biosurfaktan, namun beberapa penelitian menunjukkan hasil yang tidak linear antara uji hemolisis dengan kemampuan isolat dalam menghasilkan biosurfaktan (Angelica *et al.*, 2022; Handayani *et al.*, 2016), sehingga keberadaan biosurfaktan harus dikonfirmasi dengan metode tambahan, seperti uji emulsifikasi atau pengukuran tegangan permukaan untuk benar-benar memverifikasi produksi biosurfaktan (Thakur *et al.*, 2024).

### D. Produksi dan Karakterisasi Biosurfaktan

#### 1. Uji Drop Collapse

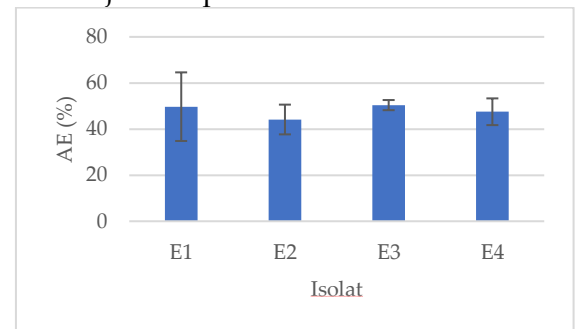
Hasil uji drop collapse secara kualitatif menunjukkan adanya perbedaan antara penyebaran akuades dan supernatan yang mengandung ekstrak kasar biosurfaktan. Keempat sampel uji menunjukkan hasil positif yaitu penyebaran yang lebih lebar dibandingkan kontrol dan akuades. Hasil uji drop collapse ditunjukkan pada Gambar 3. Jika biosurfaktan diproduksi, tetesan air akan menyebar atau "collapse" (jatuh dan melebar), karena biosurfaktan menurunkan tegangan permukaan yang biasanya menjaga bentuk bulat dari tetesan. Sebaliknya, jika biosurfaktan tidak ada, tetesan tetap bulat karena tegangan permukaan air tidak terganggu (Youssef *et al.*, 2004).



Gambar 3. Uji Drop Collapse

#### 2. Aktivitas Emulsifikasi

Aktivitas emulsifikasi juga ditunjukkan oleh supernatan yang mengandung ekstrak kasar biosurfaktan. Aktivitas emulsifikasi tertinggi pada sampel isolat E3 yaitu 50,4%. Data aktivitas emulsifikasi ditunjukkan pada Gambar 4.



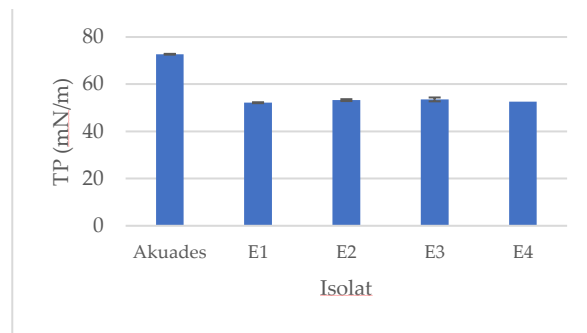
Gambar 4. Aktivitas Emulsifikasi Sampel Uji

#### 3. Tegangan Permukaan

Tegangan permukaan ekstrak kasar biosurfaktan juga terdeteksi dalam penelitian ini. Akuades sebagai standar memiliki nilai tegangan permukaan sebesar 72 mN/m. Sedangkan sampel uji memiliki nilai yang lebih rendah dengan kisaran antara 53,6-52,2 mN/m, dengan nilai tegangan permukaan terendah pada sampel E1 yaitu 52,2 mN/m. Data disajikan melalui Gambar 5.

Penelitian ini memberikan gambaran isolat indigenus eco-enzyme potensial *non-pathogenic* dalam menghasilkan biosurfaktan. Penelitian ini menggunakan metode karakterisasi secara konvensional sehingga pengujian dengan metode *advance* diperlukan lebih lanjut untuk

memperoleh hasil identifikasi isolat yang lebih valid.



Gambar 5. Tegangan Permukaan Sampel Uji

## PENUTUP

Penelitian ini mendapatkan 4 isolat potensial penghasil biosurfaktan yaitu E1, E2, E3, dan E4. Karakteristik keempat isolat berbeda secara makroskopis, mikroskopis, dan biokimianya, isolat tersebut genus *Sacharomyces* (E1), *Corynebacterium* (E2), *Pichia* (E3), dan *Bacillus* (E4). Keempat isolat menunjukkan aktifitas biosurfaktan, aktifitas emulsifikasi tertinggi pada supernatan E3 sebesar 50,4%, tegangan permukaan terendah pada supernatan E1 sebesar 52,2 Nm/m, serta keempat supernatan isolat menunjukkan positif *drop collapse*.

Penelitian ini menegaskan bahwa terdapat mikroba indigenus eco-enzyme

## DAFTAR PUSTAKA

- Angelica, A., Rusmana, I., & Priyanto, J. A. (2022). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan. Institute Pertanian Bogor.
- Barrow, G. I., & Feltham, R. K. A. (2003). Cowan and Steel's manual for the identification of medical bacteria.
- Bazireh, H., Shariati, P., Azimzadeh Jamalkandi, S., Ahmadi, A., & Boroumand, M. A. (2020). Isolation of Novel Probiotic Lactobacillus and Enterococcus Strains From Human Salivary and Fecal Sources. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.597946>
- Ceresa, C., Fracchia, L., Fedeli, E., Porta, C., & Banat, I. M. (2021). Recent advances in biomedical, therapeutic and pharmaceutical applications of microbial surfactants. In *Pharmaceutics* (Vol. 13, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040466>
- Emmanuel, E. S. C., Priya, S. S., & George, S. (2019). Isolation of biosurfactant from Lactobacillus sp. And Study of Its Inhibitory Properties Against E.coli Biofilm. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 13(1), 403–411. <https://doi.org/10.22207/JPAM.13.1.44>

yang berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan yang dapat dimanfaatkan sebagai alternatif pengganti surfaktan di bidang farmasi. Eksplorasi dalam rangka pencarian isolat potensial penghasil biosurfaktan yang aman hingga produknya masih perlu dilakukan. Karakterisasi biosurfaktan dan potensinya sebagai agen antimikroba juga menarik untuk dilakukan sebagai penelitian pengembangan untuk mendapatkan alternatif bahan baku farmasi berbasis sumber daya hayati lokal asal Indonesia.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada tim dan Universitas Muhammadiyah Gresik yang telah membantu dan mendukung terlaksananya penelitian ini, serta Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, dan Teknologi, Direktorat Jenderal Pendidikan Vokasi yang telah memberikan dana penelitian melalui skema Penelitian Dosen Pemula (PDP) tahun 2024 SK. no. 1297/D4/AL.04/2024 dan perjanjian kontrak no. 015/MoU.DK/II.3.UMG/DPPM/2024.



- Chen, Y., Qi, J., Yang, H., Lei, X., Jiang, J., Song, Y., Qin, Y., & Liu, Y.-L. (2023). Fungal dynamic during apricot wine spontaneous fermentation and aromatic characteristics of *Pichia kudriavzevii* for potential as starter. *Food Chemistry*, X(19). <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100862>
- Cruz, A. F., Barka, G. D., Blum, L. E. B., Tanaka, T., Ono, N., Kanaya, S., & Reineke, A. (2019). Evaluation of microbial communities in peels of Brazilian tropical fruits by amplicon sequence analysis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 50(3), 739–748. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00088-0>
- Czerucka, D., Piche, T., & Rampal, P. (2007). Review article: Yeast as probiotics - *Saccharomyces boulardii*. In *Alimentary Pharmacology and Therapeutics* (Vol. 26, Issue 6, pp. 767–778). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2007.03442.x>
- Daniati, E., Kurniatuhadi, R., & Turnip, M. (2023). Inventarisasi Khamir pada Ragi Tape yang Terbuat dari Tepung Beras (*Oryza sativa* L.) Varietas Lokal. *Biologica Samudra*, 5(2), 159–173. <https://doi.org/10.33059/jbs.v2i1.6141>
- Dong, Y., Shu, G., Dai, C., Zhang, M., & Wan, H. (2019). Screening and Identification of Biosurfactant-Producing Lactic Acid Bacteria. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*, 23(2), 85–92. <https://doi.org/10.2478/aucft-2019-0011>
- Elshaghabee, F. M. F., Rokana, N., Gulhane, R. D., Sharma, C., & Panwar, H. (2017). *Bacillus* as potential probiotics: Status, concerns, and future perspectives. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 8, Issue AUG). *Frontiers Media S.A.* <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01490>
- Fernandes, N. de A. T., Simões, L. A., & Dias, D. R. (2023). Biosurfactants Produced by Yeasts: Fermentation, Screening, Recovery, Purification, Characterization, and Applications. In *Fermentation* (Vol. 9, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/fermentation9030207>
- Fijan, S. (2014). Microorganisms with claimed probiotic properties: An overview of recent literature. In *International Journal of Environmental Research and Public Health* (Vol. 11, Issue 5, pp. 4745–4767). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijerph110504745>
- Ghasemi, A., Moosavi-Nasab, M., Setoodeh, P., Mesbahi, G., & Yousefi, G. (2019). Biosurfactant Production by Lactic Acid Bacterium *Pediococcus dextrinicus* SHU1593 Grown on Different Carbon Sources: Strain Screening Followed by Product Characterization. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41589-0>
- Handayani, Y. S., Ni'matuzahroh, & Affandi, M. (2016). Pendugaan Produksi Biosurfaktan oleh Strain Bakteri Hidrokarbonoklastik dari Perairan Kali Donan Cilacap. Universitas Airlangga.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., & Boekhout, T. (2011). *The Yeasts: A Taxonomic Study* (Fifth edition).
- Mohammed, S., & Çon, A. H. (2021). Isolation and characterization of potential probiotic lactic acid bacteria from traditional cheese. *LWT*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112319>
- Nikolova, C., & Gutierrez, T. (2021). Biosurfactants and Their

- Applications in the Oil and Gas Industry: Current State of Knowledge and Future Perspectives. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 9). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.626639>
- Ni'matuzahroh, Sari, S. K., Trikurniadewi, N., Ibrahim, S. N. M. M., Khiftiyah, A. M., Abidin, A. Z., Nurhariyati, T., & Fatimah. (2020). Bioconversion of agricultural waste hydrolysate from lignocellulolytic mold into biosurfactant by *Achromobacter* sp. BP(1)5. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101534>
- Ni'matuzahroh, Trikurniadewi, N., Pramadita, A. R. A., Pratiwi, I. A., Salamun, Fatimah, & Sumarsih, S. (2017). Biodegradation of naphthalene and phenanthren by *Bacillus subtilis* 3KP. *AIP Conference Proceedings*, 1854. <https://doi.org/10.1063/1.4985417>
- Sambanthamoorthy, K., Feng, X., Patel, R., Patel, S., & Parnavitana, C. (2014). Antimicrobial and antibiofilm potential of biosurfactants isolated from lactobacilli against multi-drug-resistant pathogens. <http://www.biomedcentral.com/1471-2180/14/197>
- Sharma, J., Sundar, D., & Srivastava, P. (2021). Biosurfactants: Potential Agents for Controlling Cellular Communication, Motility, and Antagonism. In *Frontiers in Molecular Biosciences* (Vol. 8). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.727070>
- Swain, M. R., Anandharaj, M., Ray, R. C., & Parveen Rani, R. (2014). Fermented Fruits and Vegetables of Asia: A Potential Source of Probiotics. *Biotechnology Research International*, 2014, 1–19. <https://doi.org/10.1155/2014/250424>
- Tabrizi Rayeni, L., & Soltani Nezhad, S. (2018). Characterization of Biosurfactant Produced by Probiotic Bacteria Isolated from Human Breast Milk. *International Journal of Basic Science in Medicine*, 3(1), 18–24. <https://doi.org/10.15171/ijbsm.2018.04>
- Thakur, B., Kaur, S., Dwibedi, V., Albadrani, G. M., Al-Ghadi, M. Q., & Abdel-Daim, M. M. (2024). Unveiling the antimicrobial and antibiofilm potential of biosurfactant produced by newly isolated *Lactiplantibacillus plantarum* strain 1625. *Frontiers in Microbiology*, 15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1459388>
- Thavasi, R., Nambaru, V. R. M. S., Jayalakshmi, S., Balasubramanian, T., & Banat, I. M. (2011). Biosurfactant Production by *Pseudomonas aeruginosa* from Renewable Resources. *Indian Journal of Microbiology*, 51(1), 30–36. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0076-7>
- Vallejo, C. M., Restrepo, M. A. F., Duque, F. L. G., & Díaz, J. C. Q. (2021). Production, characterization and kinetic model of biosurfactant produced by lactic acid bacteria. *Electronic Journal of Biotechnology*, 53, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2021.06.001>
- Wu, B., Xiu, J., Yu, L., Huang, L., Yi, L., & Ma, Y. (2022). Biosurfactant production by *Bacillus subtilis* SL and its potential for enhanced oil recovery in low permeability reservoirs. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12025-7>

- Xu, X., Luo, D., Bao, Y., Liao, X., & Wu, J. (2018). Characterization of diversity and probiotic efficiency of the autochthonous lactic acid bacteria in the fermentation of selected raw fruit and vegetable juices. *Frontiers in Microbiology*, 9(OCT). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02539>
- Yang, X., Hong, J., Wang, L., Cai, C., Mo, H., Wang, J., Fang, X., & Liao, Z. (2024). Effect of Lactic Acid Bacteria Fermentation on Plant-Based Products. In *Fermentation* (Vol. 10, Issue 1). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/fermentation10010048>
- Youssef, N. H., Duncan, K. E., Nagle, D. P., Savage, K. N., Knapp, R. M., & McInerney, M. J. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *Journal of Microbiological Methods*, 56(3), 339–347. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2003.11.001>