

**KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PENGHASIL
BIOSURFAKTAN DAN OPTIMASI KONSENTRASI SUBSTRAT
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PRODUK
FERMENTASI LIMBAH *PALM OIL MILL EFFLUENT***

SKRIPSI



**OLEH:
ALYA HAMDAN
NIM. 22032111/2022**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2026**

**KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PENGHASIL
BIOSURFAKTAN DAN OPTIMASI KONSENTRASI SUBSTRAT
TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PRODUK
FERMENTASI LIMBAH *PALM OIL MILL EFFLUENT***

SKRIPSI

*Diajukan sebagai salah satu persyaratan guna memperoleh gelar
sarjana sains*



ALYA HAMDAH

NIM. 22032111/2022

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2026**

PERSETUJUAN SKRIPSI

Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Biosurfaktan dan Optimasi Konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Antioksidan Produk Fermentasi dari Limbah Palm Oil Mill Effluent

Nama : Alya Hamdah
NIM/TM : 22032111/2022
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 12 Februari 2026

Disetujui Oleh

Pembimbing 1



Siska Alicia Farma, S.Pd., M. Biomed
NIP. 198903042019032014

Pembimbing 2



Dr. M. Eka Prastya, S.Si., M.Si.
NIP. 199206202020121009

Mengetahui
Kepala Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 197508152006042001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

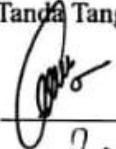
Nama : Alya Hamdah
NIM/TM : 22032111/2022
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

KARAKTERISASI ISOLAT BAKTERI PENGHASIL BIOSURFAKTAN DAN OPTIMASI KONSENTRASI SUBSTRAT TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PRODUK FERMENTASI LIMBAH *PALM OIL MILL EFFLUENT*

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan didepan Tim Penguji Skripsi
Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Padang, 12 Februari 2026

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua :	Siska Alicia Farma, S.Pd., M. Biomed	
2. Sekretaris :	Dr. M. Eka Prastya, S.Si., M.Si	
3. Anggota :	Dr. Irdawati, M. Si	
4. Anggota :	Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed	

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

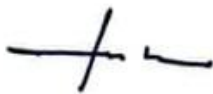
Nama : Alya Hamdah
NIM/TM : 22032111/2022
Program Studi : Biologi
Departemen : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul “Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Biosurfaktan dan Optimasi Konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Antioksidan Produk Fermentasi dari Limbah *Palm Oil Mill Effluent*” adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya yang ditulis dan diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 12 Februari 2026

Diketahui oleh,
Kepala Departemen Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed
NIP. 197508152006042001

Saya yang menyatakan,



Alya Hamdah
NIM. 22032111

Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Biosurfaktan dan Optimasi Konsentrasi Substrat terhadap Aktivitas Antioksidan Produk Fermentasi dari Limbah *Palm Oil Mill Effluent*

Alya Hamdah

ABSTRAK

Palm Oil Mill Effluent (POME) merupakan limbah cair industri kelapa sawit dengan kandungan bahan organik tinggi yang berpotensi mencemari lingkungan, namun juga memiliki potensi sebagai substrat fermentasi mikroorganisme. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri penghasil biosurfaktan dari limbah POME serta mengevaluasi pengaruh variasi konsentrasi POME terhadap aktivitas antioksidan biosurfaktan yang dihasilkan.

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yang diawali dengan isolasi bakteri dari limbah POME dan seleksi isolat potensial berdasarkan indeks emulsifikasi 24 jam (E24). Isolat terpilih selanjutnya dikarakterisasi secara morfologi melalui pewarnaan Gram dan *Scanning Electron Microscope* (SEM), secara fisiologis melalui uji hemolisis dan kurva pertumbuhan, serta diidentifikasi secara molekuler menggunakan *sequencing* gen 16S rRNA. Produksi biosurfaktan dilakukan menggunakan media *Nutrient Broth* dengan optimasi konsentrasi POME sebesar 5%, 10%, 25%, 50%, dan 75% (v/v). Aktivitas antioksidan ekstrak biosurfaktan diuji menggunakan metode DPPH dan ABTS dengan parameter nilai IC_{50} , sedangkan karakterisasi gugus fungsi dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa satu isolat bakteri memiliki nilai E24 tertinggi dan berpotensi sebagai penghasil biosurfaktan. Isolat tersebut teridentifikasi memiliki kekerabatan terdekat dengan *Cytobacillus kochii*. Optimasi Konsentrasi POME berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan biosurfaktan, dengan peningkatan aktivitas pada konsentrasi menengah hingga tinggi berdasarkan nilai IC_{50} metode DPPH dan ABTS. Analisis FTIR menunjukkan bahwa biosurfaktan yang dihasilkan didominasi oleh senyawa lipopeptida dengan keberadaan gugus amida dan rantai alifatik.

Kata Kunci : Antioksidan, Bakteri, Biosurfaktan, Fermentasi, *Palm Oil Mill Effluent*

Characterization of Biosurfactant-Producing Bacterial Isolates and Optimization of Substrate Concentration for the Antioxidant Activity of Fermentation Products Derived from Palm Oil Mill Effluent

Alya Hamdah

ABSTRACT

Palm Oil Mill Effluent (POME) is a major liquid waste generated by the palm oil industry, characterized by high organic content that may cause environmental pollution if not properly managed. However, its rich nutrient composition also provides potential as a fermentation substrate for microorganisms. This study aimed to isolate and characterize biosurfactant-producing bacteria from POME and to evaluate the effect of varying POME concentrations on the antioxidant activity of the resulting biosurfactant.

This descriptive study began with the isolation of bacteria from POME, followed by the selection of potential biosurfactant-producing isolates based on the 24-hour emulsification index (E24). The selected isolate was further characterized morphologically using Gram staining and Scanning Electron Microscopy (SEM), physiologically through hemolysis testing and growth curve analysis, and molecularly identified by 16S rRNA gene sequencing. Biosurfactant production was carried out using Nutrient Broth as the fermentation medium, with POME concentrations of 5%, 10%, 25%, 50%, and 75% (v/v) applied for concentration optimization. The antioxidant activity of crude biosurfactant extracts was evaluated using DPPH and ABTS assays, expressed as IC₅₀ values, while functional group characterization was performed using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR).

*The results demonstrated that one bacterial isolate exhibited the highest E24 value, indicating strong biosurfactant-producing capability, and was closely related to *Cytobacillus kochii* based on 16S rRNA sequence analysis. Optimization in POME concentration significantly affected the antioxidant activity of the biosurfactant, with moderate to high POME concentrations showing enhanced antioxidant potential as indicated by lower IC₅₀ values in both DPPH and ABTS assays. FTIR analysis revealed that the biosurfactant was predominantly composed of lipopeptide compounds, characterized by the presence of amide functional groups and aliphatic chains.*

Keyword : *Antioxidant activity, Bacteria, Biosurfactant, fermentation, Palm Oil Mill Effluent*

KATA PENGANTAR



Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Biosurfaktan Dan pengaruh variasi Konsentrasi substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Produk Fermentasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent* ”. Sholawat berserta salam senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan kali ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Siska Alicia Farma, S.Pd., M. Biomed sebagai Dosen Pembimbing I penulis yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing penulis, memberikan motivasi serta semangat kepada penulis dalam menyelesaikan Skripsi.
2. Bapak Dr. M. Eka Prastya, S.Si., M.Si sebagai Pembimbing II penulis yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing penulis selama proses penelitian di BRIN KST BJ Habibie Serpong, dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.

3. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si., M.Biomed dan Ibu Dr. Irdawati, M.Si sebagai Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini, serta memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis.
4. Kepada Ibu Dr. dr. Elsa Yuniarti, S.ked., M.biomed., AIFO-k selaku Dosen Penasihat Akademik yang telah memberikan nasihat, bimbingan dan motivasi selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Biologi
5. Bapak dan Ibu staf Departemen Biologi yang telah membantu penulis untuk kelancaran penulisan skripsi.
6. Yang teristimewa terima kasih kepada orang tua yang telah berjasa dalam hidup penulis, yang selalu mengusahakan yang terbaik, selalu memanjatkan do'a agar memudahkan dalam segala urusan hingga penulis dapat merampungkan skripsi.
7. Kepada semua pihak yang terlibat, berpartisipasi dan memberikan dukungan kepada penulis selama perkuliahan sampai menyelesaikan Skripsi.

Demikian ucapan terimakasih dari penulis, semoga bantuan yang telah Bapak/Ibu serta rekan- rekan berikan menjadi amal ibadah dan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Penulis berharap penulisan skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis maupun bagi semua orang yang membacanya.

Padang, 2 Februari 2026

Penulis

DAFTAR ISI

Daftar Isi	Halaman
ABSTRAK.....	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR.....	vii
DAFTAR LAMPIRAN.....	viii
DAFTAR TABEL.....	ix
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Limbah <i>Palm Oil Mill Effluent</i> (POME).....	7
B. Biosurfaktan.....	9
C. Bakteri Penghasil Biosurfaktan	10
D. Karakterisasi Bakteri Penghasil Biosurfaktan	12
E. Antioksidan.....	15
F. Analisis Gugus Fungsi Biosurfaktan Menggunakan FTIR	17
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Jenis Penelitian	19
B. Waktu dan Tempat.....	19
C. Alat dan Bahan.....	19
D. Prosedur Penelitian	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	36
A. Hasil.....	36
B. Pembahasan	44
BAB V PENUTUP	59
A. Kesimpulan	59
B. Saran	60

DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. 5 Isolat Murni.....	36
2. (A) Pengamatan Pewarnaan Gram B3 Perbesaran 40x, (B) Pengamatan (SEM) isolat B3.....	38
3. (A) Aktivitas Hemolisis Isolat B3, (B) Kontrol Positif	39
4. Kurva Tumbuh Isolat B3	40
5. Hasil Elektroforesis B3	41
6. Hasil Analisis Filogenetik Isolat B3	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Hasil Isolasi Bakteri sari Limbah Pome Isolat Limbah POME	73
2. Hasil Uji Emulsifikasi 24 jam (E24).....	74
3. Isolat Koloni Tunggal Bakteri Potensial B3	75
4. Pengamatan Kurva Tumbuh.....	75
5. Hasil Top 10 BLAST Isolat B3 Berdasarkan Data NCBI	77
6. Hasil Analisa Kurva Tumbuh	79
7. Variasi konsentrasi POME dengan Media Nutrient Broth.....	79
8. Limbah POME	79
9. Hasil Ekstraksi Ethanol Sampel Biosurfaktan	80
10. Analisis Antioksidan ABTS.....	80
11. Kontrol ABTS	80
12. Analisis Antioksidan DPPH.....	81
13. Kontrol DPPH	81
14 Analisis IC ₅₀ ABTS	82
15. Analisis IC ₅₀ ABTS.....	88
16. Grafik Persamaan Linear ABTS	94
17. Grafik Persamaan Regresi Linear	96
18. Kromatogram Analisis FTIR	98

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Penelitian Biosurfaktan menggunakan Bakteri 5 tahun terakhir	11
2. Perlakuan ptimasi Fermentasi dengan Limbah POME	22
3. Hasil Pengujian Emulsifikasi 24 jam (E24).....	37
4. Hasil Identifikasi Tingkat Kemiripan tertinggi isolat B3 menggunakan BLAST NCBI	41
5. Hasil Analisis Antioksidan Sampel dengan Variasi Media POME Pada Pengujian ABTS dan DPPH	43
6. Interpretasi gugus fungsi berdasarkan Kromatogram FTIR (Lampiran 18.)	44

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Industri kelapa sawit di Indonesia merupakan salah satu komoditas strategis yang bernilai ekonomi tinggi. Badan Pusat Statistik (BPS) (2024) menyatakan total produksi kelapa sawit Indonesia tahun 2023 mencapai 47.048 ton, yang tersebar di berbagai provinsi. Industri kelapa sawit yang terus meningkat menjadikan volume limbah yang dihasilkan juga semakin tinggi (Siregar & Hasibuan Abdurrazaq, 2024). *Palm Oil Mill Effluent* (POME) merupakan limbah cair yang dihasilkan dari proses pengolahan minyak kelapa sawit (Fitria *et al.*, 2021). Menurut (Ratnasari *et al.*, 2024), pada proses produksi minyak kelapa sawit sebesar 5,8 juta ton/tahun dapat menghasilkan limbah cair kelapa sawit (POME) sebesar 10,2 juta ton/tahun. POME dapat menimbulkan persoalan lingkungan jika tidak dikelola dengan baik. Namun di samping itu, POME juga menyimpan potensi sebagai sumber bahan organik bagi aplikasi bioteknologi seperti produksi biosurfaktan (Fitria *et al.*, 2021).

POME umumnya berbentuk cairan cokelat pekat dengan kandungan padatan tersuspensi minyak atau lemak yang mengandung berbagai nutrisi seperti karbohidrat, lipid, nitrogen, dan mineral (Mohammad *et al.*, 2021). POME dapat menjadi sumber karbon dan energi yang ideal bagi mikroorganisme penghasil biosurfaktan (Chooklin *et al.*, 2013). Selain itu, keberadaan mikroba lokal di dalam POME juga ikut andil dalam membuka peluang isolasi strain potensial penghasil biosurfaktan (Hope & Gideon, 2015). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nakanishi *et al.*, (2021) dan Bala *et*

al., (2018), komunitas bakteri di dalam POME umumnya tersusun atas empat genus utama, yaitu *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, dan *Bacillus*.

Keberadaan komunitas bakteri lokal tersebut dapat berpotensi sebagai sumber biologis penghasil biosurfaktan, menurut penelitian yang dilakukan oleh (Zia & Linda, (2023) menyatakan bahwa isolat bakteri *Bacillus* spp. berpotensi sebagai biosurfaktan dalam pengujian emulsifikasi minyak. Biosurfaktan merupakan surfaktan alami yang berasal dari sumber biologis dan disintesis oleh tumbuhan, bakteri, khamir, dan kapang sebagai metabolit sekunder (Ravinder *et al.*, 2022). Produksi biosurfaktan dari bakteri lokal POME umumnya diawali dengan tahap isolasi dan seleksi isolat potensial berdasarkan aktivitas emulsifikasi (Samsu *et al.*, 2020).

Namun, penentuan isolat potensial tidak cukup hanya berdasarkan kemampuan emulsifikasi, melainkan perlu didukung oleh karakterisasi morfologi seperti pewarnaan Gram dan pengamatan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) memberikan informasi awal mengenai bentuk dan struktur sel bakteri (Pratama *et al.*, 2025). Sementara itu, karakterisasi fisiologi seperti uji hemolisis dan analisis kurva pertumbuhan digunakan untuk menilai sifat biologis isolat, keamanan awal (Triakurniadewi, 2025), serta menentukan fase pertumbuhan yang berkaitan dengan produksi metabolit sekunder (Saimmai *et al.*, 2013) Serta identitas molekuler untuk memastikan bahwa isolat tersebut benar-benar mampu memproduksi biosurfaktan dan untuk mengidentifikasi taksonominya secara akurat. Beberapa penelitian melakukan identifikasi molekuler dengan sekuensing gen 16S rRNA setelah screening aktivitas biosurfaktan untuk karakterisasi isolat yang potensial (Nayariseri *et al.*, 2018).

Struktur dan sifat biosurfaktan juga dipengaruhi oleh sumber biologis atau mikroorganisme penghasilnya, Jenis substrat yang digunakan serta kondisi saat kultivasi atau kultur yang dilakukan (Maulana *et al.*, 2022). Biosurfaktan juga lebih aman untuk terurai di lingkungan karena mikroorganisme pengurai di lingkungan dapat memecah biosurfaktan lebih cepat dibandingkan dengan surfaktan sintetis yang memerlukan tahapan kimia tambahan dalam produksinya. Sifat ini menjadikan biosurfaktan lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan surfaktan sintetis (Hogan *et al.*, 2019).

Selain ramah lingkungan, aspek ekonomis produksi biosurfaktan juga penting. Faktor utama yang mempengaruhi produksinya adalah komposisi media, yang mana secara konvensional menggunakan glukosa atau minyak nabati sebagai sumber karbon dan pepton atau ammonium sebagai sumber nitrogen yang mahal (Qamar & Pacifico, 2023). Untuk menekan biaya produksi, substrat limbah seperti *Palm Oil Mill Effluent* (POME) bisa dimanfaatkan. Penelitian oleh (Sari *et al.*, 2020), menunjukkan bahwa POME dengan konsentrasi tertentu seperti 16% (v/v) dapat meningkatkan aktivitas biosurfaktan, tergantung pada strain bakteri yang digunakan. Dengan demikian, pemanfaatan POME tidak hanya menurunkan biaya produksi tetapi juga menjadi strategi produksi yang berkelanjutan.

Selain aspek produksi, biosurfaktan dari POME perlu dikaji berdasarkan aktivitas fungsionalnya, seperti aktivitas antioksidan. Kajian ini membuka peluang aplikasi yang lebih bernilai, misalnya dalam kosmetik atau sebagai stabilisator emulsi untuk melindungi bahan sensitif seperti minyak esensial, lipid dari oksidasi (Zanotto *et al.*, 2023). Aktivitas antioksidan umumnya diukur melalui berbagai metode seperti DPPH

(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dan ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)) (Tancredi *et al.*, 2025), pengukuran aktivitas antioksidan ini ditujukan untuk memvalidasi potensi biosurfaktan, dengan menggunakan parameter utama seperti nilai IC₅₀ yang rendah (Zouari *et al.*, 2016)

Aktivitas antioksidan pada biosurfaktan berasal dari struktur kimianya. Pada penelitian Abdollahi *et al.*, (2020) menyatakan bahwa biosurfaktan lipopeptida yang dihasilkan dari *Bacillus amyloliquefaciens* memiliki gugus peptida dan rantai asam lemak yang berperan dalam penangkapan radikal bebas sehingga menunjukkan aktivitas antioksidan yang sebanding dengan senyawa kontrol positif BHA (*Butylated Hydroxyanisole*) dalam uji DPPH dan FRAP. Selain itu, senyawa turunan dari substrat fermentasi berbasis POME dapat ikut terekstrak dan berasosiasi dengan biosurfaktan, sehingga meningkatkan aktivitas antioksidan pada ekstrak kasarnya (Saifuddin *et al.*, 2014). Bukti potensinya pun telah ditunjukkan seperti surfaktan yang mampu menghambat oksidasi lipid, membuka peluang aplikasi biosurfaktan di bidang kosmetik dan farmasi (He *et al.*, 2017). Variasi kapasitas antioksidan yang besar antar jenis biosurfaktan ini mengharuskan karakterisasi kimia menggunakan FTIR, serta uji kuantitatif aktivitas antioksidan dengan seperti DPPH dan ABTS diperlukan untuk mengaitkan struktur dengan aktivitasnya secara spesifik.

Biosurfaktan dari limbah POME umumnya telah diteliti sebagai aplikasi emulsifikasi dan bioremediasi (Hope & Gideon, 2015). Namun, fokus penelitian masih terbatas pada karakterisasi fisikokimia, sementara potensi bioaktivitasnya khususnya sebagai antioksidan, belum banyak dieksplorasi. Meskipun optimasi media berbasis POME telah dilakukan oleh (Sari *et al.*, 2020), hubungan antara struktur kimia

biosurfaktan dengan aktivitas antioksidannya masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengisi kesenjangan tersebut melalui isolasi bakteri lokal, optimasi fermentasi POME, dan evaluasi aktivitas antioksidan dari biosurfaktan yang dihasilkan. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya berkontribusi pada pemanfaatan limbah menjadi produk bernilai tinggi, tetapi juga memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan biosurfaktan dari sumber daya lokal yang berkelanjutan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah di uraikan, maka permasalahan yang akan di kaji dalam penelitian ini sebagai berikut:

1. Berapa jumlah isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME)?
2. Bagaimana potensi isolat bakteri hasil isolasi limbah POME sebagai penghasil biosurfaktan berdasarkan indeks emulsifikasi (E24)?
3. Bagaimana karakteristik morfologi, fisiologi, dan identitas molekuler isolat bakteri potensial penghasil biosurfaktan dari limbah POME?
4. Berapakah konsentrasi limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME) yang optimum sebagai campuran medium fermentasi untuk menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi berdasarkan metode DPPH dan ABTS?
5. Bagaimana karakteristik gugus fungsi biosurfaktan hasil fermentasi limbah POME berdasarkan analisis FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui jumlah hasil isolat bakteri yang berhasil di isolasi dari limbah POME
2. Mengetahui isolat mana yang memiliki potensial penghasil biosurfaktan berdasarkan indeks emulsifikasi (E24).
3. Mengkarakterisasi dan mengidentifikasi isolat bakteri potensial penghasil biosurfaktan berdasarkan karakter morfologi, fisiologi, dan molekuler.
4. Mengetahui konsentrasi limbah POME yang optimum sebagai campuran medium fermentasi terhadap aktivitas antioksidan berdasarkan metode DPPH dan ABTS.
5. Mengetahui karakterisasi gugus fungsi biosurfaktan hasil fermentasi limbah POME berdasarkan analisis FTIR (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*).

D. Manfaat Penelitian

Hasil Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat antara lain:

1. Memberikan informasi mengenai keberadaan isolat bakteri dari limbah *Palm Oil Mill Effluent* (POME).
2. Memberikan data ilmiah mengenai potensi isolat bakteri dari limbah POME sebagai penghasil biosurfaktan berdasarkan indeks emulsifikasi (E24).
3. Memberikan informasi konsentrasi limbah POME yang optimum sebagai campuran medium fermentasi terhadap aktivitas antioksidan berdasarkan metode DPPH dan ABTS.
4. Memberikan informasi mengenai karakteristik gugus fungsi biosurfaktan hasil fermentasi berbasis limbah POME berdasarkan analisis FTIR.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil Penelitian Mengenai Karakterisasi Isolat Bakteri Penghasil Biosurfaktan dan Pengaruh Variasi Konsentrasi Substrat Terhadap Aktivitas Antioksidan Produk Fermentasi Limbah *Palm Oil Mill Effluent* , maka diperoleh beberapa simpulan sebagai berikut.

1. Didapatkan 5 jumlah isolat yang berhasil di isolasi dari limbah POME.
2. Hasil indeks emulsifikasi (E24), isolat B3 menunjukkan aktivitas tertinggi dengan nilai E24 sebesar 52,69%, melampaui ambang batas $\geq 50\%$ menjadikannya berpotensi sebagai indikator biosurfaktan yang efektif.
3. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa isolat bakteri potensial bersifat Gram-positif dengan morfologi sel berbentuk basil berujung membulat dan permukaan sel relatif halus. Secara fisiologis, isolat menunjukkan α -hemolisis, mencapai fase log pada 6–24 jam, dan fase stasioner pada 48–96 jam. Serta teridentifikasi secara molekuler dengan menunjukkan kekerabatan terdekat dengan *Cytobacillus kochii* dengan nilai bootstrap 99%.
4. Hasil Optimasi limbah POME dalam medium fermentasi memengaruhi aktivitas antioksidan biosurfaktan, di mana konsentrasi 25% menghasilkan aktivitas terbaik, dengan nilai IC_{50} metode ABTS sebesar $79,10 \pm 20,02 \mu\text{g/mL}$ dan IC_{50} metode DPPH sebesar $198 \pm 57,93 \mu\text{g/mL}$.
5. Hasil analisis gugus fungsi FTIR menunjukkan bahwa biosurfaktan pada seluruh variasi konsentrasi didominasi oleh tipe lipopeptida.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh, maka disarankan:

1. Penelitian lanjutan disarankan untuk melakukan pemurnian dan karakterisasi lanjutan biosurfaktan yang dihasilkan oleh isolat bakteri potensial guna mengidentifikasi senyawa aktif secara lebih spesifik.
2. Perlu dilakukan optimasi lebih lanjut terhadap kondisi fermentasi, termasuk variasi konsentrasi limbah POME, pH, suhu, dan waktu inkubasi, untuk meningkatkan produksi biosurfaktan dan aktivitas antioksidannya.
3. Penelitian selanjutnya disarankan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan biosurfaktan menggunakan metode tambahan, selain DPPH dan ABTS, guna memperoleh gambaran aktivitas antioksidan yang lebih komprehensif.
4. Uji toksisitas dan biokompatibilitas biosurfaktan perlu dilakukan untuk menilai keamanan penggunaannya, terutama jika akan dikembangkan sebagai produk berbasis bahan alam.
5. Diperlukan kajian lebih lanjut mengenai potensi aplikasi biosurfaktan berbasis limbah POME pada bidang pangan, farmasi, atau lingkungan sebagai upaya pemanfaatan limbah yang berkelanjutan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aao, O., & Oa, F. (2021). The Intriguing Extrapolations of Haemolysis Assay as Screening Criterion for Selecting Biosurfactant-Producing Microorganisms in Petroleum Industries Process-Conditions. *J Pet Environ Biotechnol*, 12(8), 431. <http://www>.
- Abdollahi, S., Tofighi, Z., Babae, T., Shamsi, M., Rahimzadeh, G., Rezvanifar, H., Saeidi, E., Mohajeri Amiri, M., Saffari Ashtiani, Y., & Samadi, N. (2020). Evaluation of Anti-oxidant and Anti-biofilm Activities of Biogenic Surfactants Derived from *Bacillus amyloliquefaciens* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR*, 19(2), 115–126. <https://doi.org/10.22037/IJPR.2020.1101033>
- Abouseoud, M., Yataghene, A., Amrane, A., & Maachi, R. (2008). Biosurfactant production by free and alginate entrapped cells of *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35(11), 1303–1308. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0411-0>
- Al-Amin, K., Kawsar, Md., Mamun, Md. T. R. B., & Sahadat Hossain, Md. (2025). Fourier transform infrared spectroscopic technique for analysis of inorganic materials: a review. *Nanoscale Advances*, 7(21), 6677–6702. <https://doi.org/10.1039/D5NA00522A>
- Amraini, S. Z., Muria, S. R., Bahrudin, B., HS, I., Artha, U. D., & Susanto, R. (2022). Biosurfactant Production from *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 with Carbon Source from Crude Palm Oil for Oil Recovery. *Indo. J. Chem. Res.*, 10(1), 47–52. <https://doi.org/10.30598/ijcr.2022.10-sai>
- Aqlinia, M., Astuti, R. I., Prastya, M. E., & Wahyudi, A. T. (2025). Antioxidant potential of melanin pigment from marine sponge-associated actinomycete *Micromonospora* sp. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 15(4), 212–224. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2025.201566>
- Araújo, H. W. C., Andrade, R. F. S., Montero-Rodríguez, D., Rubio-Ribeaux, D., Alves da Silva, C. A., & Campos-Takaki, G. M. (2019). Sustainable biosurfactant produced by *Serratia marcescens* UCP 1549 and its suitability for agricultural and marine bioremediation applications. *Microbial Cell Factories*, 18(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-1046-0>
- Astuti, D. I., Purwasena, I. A., Putri, R. E., Amaniyah, M., & Sugai, Y. (2019). Screening and characterization of biosurfactant produced by *Pseudoxanthomonas* sp. G3 and its applicability for enhanced oil recovery. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, 9(3), 2279–2289. <https://doi.org/10.1007/s13202-019-0619-8>
- Badan Pusat Statistik (BPS). (2024). *Statistik Kelapa Sawit Indonesia 2023* (Vol. 17). Badan Pusat Statistik/BPS–Statistics Indonesia.

- Bala, J. D., Lalung, J., Al-Gheethi, A. A. S., Hossain, K., & Ismail, N. (2018). Microbiota of Palm Oil Mill Wastewater in Malaysia. *Tropical Life Sciences Research*, 29(2), 131–163. <https://doi.org/10.21315/tlsr2018.29.2.10>
- Banat, I. M., Satpute, S. K., Cameotra, S. S., Patil, R., & Nyayanit, N. V. (2014). Cost effective technologies and renewable substrates for biosurfactants' production. *Frontiers in Microbiology*, 5, 697. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00697>
- Bavananthasivam, J., Shanthalingam, S., Kugadas, A., Raghavan, B., Batra, S., & Srikumaran, S. (2018). β -Hemolysis May Not Be a Reliable Indicator of Leukotoxicity of Mannheimia haemolytica Isolates. *Toxins*, 10(5), 173. <https://doi.org/10.3390/toxins10050173>
- Bensid, A., El Abed, N., Houicher, A., Regenstein, J. M., & Özogul, F. (2022). Antioxidant and antimicrobial preservatives: Properties, mechanism of action and applications in food – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(11), 2985–3001. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1862046>
- Beveridge, T. J. (1999). Structures of Gram-Negative Cell Walls and Their Derived Membrane Vesicles. *Journal of Bacteriology*, 181(16), 4725–4733. <https://doi.org/10.1128/JB.181.16.4725-4733.1999>
- Boudier, A., Tournebize, J., Bartosz, G., El Hani, S., Bengueddour, R., Sapin-Minet, A., & Leroy, P. (2012). High-performance liquid chromatographic method to evaluate the hydrogen atom transfer during reaction between 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl radical and antioxidants. *Analytica Chimica Acta*, 711, 97–106. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.10.063>
- Cano, A., Maestre, A. B., Hernández-Ruiz, J., & Arnao, M. B. (2023). ABTS/TAC Methodology: Main Milestones and Recent Applications. *Processes*, 11(1), 185. <https://doi.org/10.3390/pr11010185>
- Chakraborty, S., Ghosh, M., Chakraborti, S., Jana, S., Sen, K. K., Kokare, C., & Zhang, L. (2015). Biosurfactant produced from *Actinomyces nocardioformis* A17: Characterization and its biological evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 79, 405–412. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.04.068>
- Chooklin, C. S., Phertmean, S., Cheirsilp, B., Maneerat, S., & Saimmai, A. (2013). Utilization of palm oil mill effluent as a novel and promising substrate for biosurfactant production by *Nevskia ramosa* NA3. In *J. Sci. Technol* (Vol. 35, Number 2). <http://www>.
- Ciurko, D., Chebbi, A., Kruszelnicki, M., Czapor-Irzabek, H., Urbanek, A. K., Polowczyk, I., Franzetti, A., & Janek, T. (2023). Production and characterization of lipopeptide biosurfactant from a new strain of *Pseudomonas antarctica* 28E using crude glycerol as a carbon source. *RSC Advances*, 13(34), 24129–24139. <https://doi.org/10.1039/D3RA03408A>
- Ciurko, D., Czyżnikowska, Ż., Kancelista, A., Łaba, W., & Janek, T. (2022). Sustainable Production of Biosurfactant from Agro-Industrial Oil Wastes by

- Bacillus subtilis* and Its Potential Application as Antioxidant and ACE Inhibitor. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18), 10824. <https://doi.org/10.3390/ijms231810824>
- Coico, R. (2006). Gram Staining. *Current Protocols in Microbiology*, 00(1). <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca03cs00>
- Czerwińska-Główka, D., & Krukiewicz, K. (2021). Guidelines for a Morphometric Analysis of Prokaryotic and Eukaryotic Cells by Scanning Electron Microscopy. *Cells*, 10(12), 3304. <https://doi.org/10.3390/cells10123304>
- Darwiche, N., Dufresne, C., Chartier, A., Claude, B., Colas, C., Fougère, L., Sebban, M., Lucchesi, M.-E., Le Floch, S., & Nehmé, R. (2024). Glycolipid and Lipopeptide Biosurfactants: Structural Classes and Characterization—Rhamnolipids as a Model. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1–21. <https://doi.org/10.1080/10408347.2024.2441428>
- Datta, M., & Chattopadhyay, I. (2024). Applications of microbial biosurfactants in human health and environmental sustainability: a narrative review. *Discover Medicine*, 1(1), 160. <https://doi.org/10.1007/s44337-024-00181-w>
- de Oliveira, E. M., Sales, V. H. G., Andrade, M. S., Zilli, J. É., Borges, W. L., & de Souza, T. M. (2021). Isolation and Characterization of Biosurfactant-Producing Bacteria from Amapaense Amazon Soils. *International Journal of Microbiology*, 2021, 9959550. <https://doi.org/10.1155/2021/9959550>
- Ding, D., Du, B., Zhang, C., Zaman, F., & Huang, Y. (2019). Isolation and identification of an antioxidant collagen peptide from skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) bone. *RSC Advances*, 9(46), 27032–27041. <https://doi.org/10.1039/C9RA04665H>
- El-Sheshtawy, H. S., Aiad, I., Osman, M. E., Abo-ELnasr, A. A., & Kobisy, A. S. (2015). Production of biosurfactant from *Bacillus licheniformis* for microbial enhanced oil recovery and inhibition the growth of sulfate reducing bacteria. *Egyptian Journal of Petroleum*, 24(2), 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.05.005>
- Enders, A. A., North, N. M., Fensore, C. M., Velez-Alvarez, J., & Allen, H. C. (2021). Functional Group Identification for FTIR Spectra Using Image-Based Machine Learning Models. *Analytical Chemistry*, 93(28), 9711–9718. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c00867>
- Eras-Muñoz, E., Farré, A., Sánchez, A., Font, X., & Gea, T. (2022). Microbial biosurfactants: a review of recent environmental applications. *Bioengineered*, 13(5), 12365–12391. <https://doi.org/10.1080/21655979.2022.2074621>
- Fitria, A. N., Gunawan, V. S., & Mardiah, M. (2021). Study Of The Utilization Of Palm Oil Industry Liquid Waste. *Konversi*, 10(1). <https://doi.org/10.20527/k.v10i1.10146>

- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gulcin, İ. (2025). Antioxidants: a comprehensive review. *Archives of Toxicology*, 99(5), 1893–1997. <https://doi.org/10.1007/s00204-025-03997-2>
- Hamzah, A. F., Al-Mossawy, M. I., Al-Tamimi, W. H., Al-Najm, F. M., & Hameed, Z. M. (2020). Enhancing the spontaneous imbibition process using biosurfactants produced from bacteria isolated from Al-Rafidiya oil field for improved oil recovery. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*, 10(8), 3767–3777. <https://doi.org/10.1007/s13202-020-00874-9>
- He, Z., Zhao, H., & Lu, Z. (2017). Effect of Surfactin as Surfactant on Physical and Oxidation Stability of O/W DHA-Rich Algae Oil Emulsion. *Food Science*, 38(21), 146–151.
- Hogan, D. E., Tian, F., Malm, S. W., Olivares, C., Palos Pacheco, R., Simonich, M. T., Hunjan, A. S., Tanguay, R. L., Klimecki, W. T., Polt, R., Pemberton, J. E., Curry, J. E., & Maier, R. M. (2019). Biodegradability and toxicity of monorhamnolipid biosurfactant diastereomers. *Journal of Hazardous Materials*, 364, 600–607. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.050>
- Hope, N., & Gideon, A. (2015, August 4). Biosurfactant production from Palm Oil Mill Effluent (POME) for applications as oil field chemical in Nigeria. *SPE Nigeria Annual International Conference and Exhibition*. <https://doi.org/10.2118/178315-MS>
- Ibrahim, A. H., Dahlan, I., Adlan, M. N., & Dasti, A. F. (2012). Comparative Study on Characterization of Malaysian Palm Oil Mill Effluent. *Research Journal of Chemical Sciences*, 2(12), 1–5. www.isca.in
- Imo, E. O., & Ihejirika, C. E. (2021). Microbial load and biodegradation of palm oil mill effluent (POME) by microorganisms at different stages of discharge. *EQA*, 44, 9–17. <https://doi.org/10.6092/issn.2281-4485/11667>
- Johnson, J. S., Spakowicz, D. J., Hong, B.-Y., Petersen, L. M., Demkowicz, P., Chen, L., Leopold, S. R., Hanson, B. M., Agresta, H. O., Gerstein, M., Sodergren, E., & Weinstock, G. M. (2019). Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. *Nature Communications*, 10(1), 5029. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13036-1>
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2011). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412–422. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0251-1>
- Khan, I. U., Rahman, M. A., Othman, M. H. D., Iftikhar, M., Jilani, A., Mehmood, S., Shakoor, M. B., Rizwan, M., & Yong, J. W. H. (2025). Innovative Solutions for Palm Oil Mill Effluent Treatment: A Membrane Technology Perspective. *ACS ES&T Water*, 5(7), 3538–3562. <https://doi.org/10.1021/acsestwater.4c00432>

- Klindworth, A., Priesse, E., Schweer, T., Peplies, J., Quast, C., Horn, M., & Glöckner, F. O. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1), e1–e1. <https://doi.org/10.1093/nar/gks808>
- Kut, K., Cieniek, B., Stefaniuk, I., Bartosz, G., & Sadowska-Bartos, I. (2022). A Modification of the ABTS• Decolorization Method and an Insight into Its Mechanism. *Processes*, 10(7), 1288. <https://doi.org/10.3390/pr10071288>
- Lebrazi, S., Fadil, M., Chraïbi, M., & Fikri-Benbrahim, K. (2023). Phenotypic, molecular, and symbiotic characterization of the rhizobial symbionts isolated from *Acacia saligna* grown in different regions in Morocco: a multivariate approach. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(12). <https://doi.org/10.1007/s11274-023-03775-1>
- Liu, X., John Martin, J. J., Li, X., Zhou, L., Li, R., Li, Q., Zhang, J., Fu, D., & Cao, H. (2025). Optimization of the fermentation culture conditions of *Bacillus amyloliquefaciens* ck-05 using response surface methodology. *Frontiers in Microbiology*, 16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1552645>
- Maier, R. M. (2009). Bacterial Growth. In *Environmental Microbiology* (pp. 37–54). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370519-8.00003-1>
- Manikkasundaram, V., Baskaran, A., Kaari, M., Angamuthu, V., Venugopal, G., & Manikkam, R. (2023). Production and characterization of glycolipid biosurfactant from *Streptomyces enissocaesilis* HRB1 and its evaluation for biomedical and bioremediation applications. *Journal of Surfactants and Detergents*, 26(4), 491–503. <https://doi.org/10.1002/jsde.12643>
- Marchut-Mikołajczyk, O., Drożdżyński, P., Polewczyk, A., Smulek, W., & Antczak, T. (2021). Biosurfactant from endophytic *Bacillus pumilus* 2A: physicochemical characterization, production and optimization and potential for plant growth promotion. *Microbial Cell Factories*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-021-01533-2>
- Maulana, A., Adiandri, R. S., Boopathy, R., & Setiadi, T. (2022). Extraction, characterization, and biosurfactant properties of extracellular polymeric substance from textile wastewater activated sludge. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 134(6), 508–512. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.08.005>
- McDevitt, E., Khan, F., Scasny, A., Thompson, C. D., Eichenbaum, Z., McDaniel, L. S., & Vidal, J. E. (2020). Hydrogen Peroxide Production by *Streptococcus pneumoniae* Results in Alpha-hemolysis by Oxidation of Oxy-hemoglobin to Met-hemoglobin. *MSphere*, 5(6). <https://doi.org/10.1128/mSphere.01117-20>
- Mishra, M., & Chauhan, P. (2016). Applications of Microscopy in Bacteriology. *Microscopy Research*, 04(01), 1–9. <https://doi.org/10.4236/mr.2016.41001>
- Mogrovejo, D. C., Perini, L., Gostinčar, C., Sepčić, K., Turk, M., Ambrožič-Avguštin, J., Brill, F. H. H., & Gunde-Cimerman, N. (2020). Prevalence of Antimicrobial

- Resistance and Hemolytic Phenotypes in Culturable Arctic Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00570>
- Mohammad, S., Baidurah, S., Kobayashi, T., Ismail, N., & Leh, C. P. (2021). Palm Oil Mill Effluent Treatment Processes—A Review. *Processes*, 9(5), 739. <https://doi.org/10.3390/pr9050739>
- Mohd Yusof, M. A. Bin, Chan, Y. J., Chong, C. H., & Chew, C. L. (2023). Effects of operational processes and equipment in palm oil mills on characteristics of raw Palm Oil Mill Effluent (POME): A comparative study of four mills. *Cleaner Waste Systems*, 5, 100101. <https://doi.org/10.1016/j.clwas.2023.100101>
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, 211–219.
- Naaz, T., Kumari, S., Sharma, K., Singh, V., Khan, A. A., Pandit, S., Priya, K., & Jadhav, D. A. (2024). Bioremediation of hydrocarbon by co-culturing of biosurfactant-producing bacteria in microbial fuel cell with Fe₂O₃-modified anode. *Journal of Environmental Management*, 351, 119768. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119768>
- Nakanishi, I., Shoji, Y., Ohkubo, K., Fukuhara, K., Ozawa, T., Matsumoto, K., & Fukuzumi, S. (2021). Effects of reaction environments on radical-scavenging mechanisms of ascorbic acid. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 68(2), 116–122. <https://doi.org/10.3164/jcbtn.20-147>
- Nayariseri, A., Singh, P., & Singh, S. K. (2018). Screening, isolation and characterization of biosurfactant producing *Bacillus subtilis* strain ANSKLAB03. *Bioinformation*, 14(06), 304–314. <https://doi.org/10.6026/97320630014304>
- Nishida, T., Seino, S., & Imoto, Y. (2025). Visualizing Antimicrobial Effects on Bacterial Surfaces by SEM: A Comparative Study of Hexamethyldisilazane (HMDS) and Freeze-Drying. *Microscopy Research and Technique*, 88(12), 3273–3281. <https://doi.org/10.1002/jemt.70037>
- Nitschke, M., & Silva, S. S. e. (2018). Recent food applications of microbial surfactants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(4), 631–638. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1208635>
- Noer, S. (2021). Identifikasi Bakteri secara Molekular Menggunakan 16S rRNA. In Noer. *Identifikasi Bakteri secara Molekular EduBiologia* (Vol. 1). www.alimetrics.net
- Novriansyah, R., Suardana, I. W., & Mahatmi, H. (2025). Tipe Hemolisis Bakteri Gram Negatif yang di Isolasi dari Tonsil Babi Landrace Pasca Sapih. *Buletin Veteriner Udayana*, 406–416. <https://doi.org/10.24843/bulvet.2025.v17.i02.p19>
- Nunes Ramos, J., Veloso da Costa, L., Viana Vieira, V., & Lima Brandão, M. L. (2025). Challenges in the Identification of Environmental Bacterial Isolates from

- a Pharmaceutical Industry Facility by 16S rRNA Gene Sequences. *DNA*, 5(3), 33. <https://doi.org/10.3390/dna5030033>
- Nuraeni, S. P., Budiarti, S., & Priyanto, J. A. (2025). Isolasi, Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Hemolisin pada Permukaan Daun Pohpohan (*Pilea Melastomoides*(Poir.) Wedd.). *BioEksakta : Jurnal Ilmiah Biologi Unsoed*, 7(1), 45. <https://doi.org/10.20884/1.bioe.2025.7.1.13222>
- Nurfiqih, D., Hakim, L., & Muhammad. (2021). Pengaruh Suhu, Persentase Air, Dan Lama Penyimpanan terhadap Persentase Kenaikan Asam Lemak Bebas (ALB) Pada Crude Palm Oil (CPO). *Jurnal Teknologi Kimia Unimal*, 10(2).
- Olszewska-Widdrat, A., Alexandri, M., López-Gómez, J. P., Schneider, R., & Venus, J. (2020). Batch and Continuous Lactic Acid Fermentation Based on A Multi-Substrate Approach. *Microorganisms*, 8(7), 1084. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8071084>
- Pandia, E. Br., Hernawati, H., Jari, T., & Kahar, A. (2020). Pengaruh Laju Alir Terhadap COD, BOD dan VFA pada Pengolahan Limbah Cair Pabrik Kelapa Sawit (LCPKS) dalam Bioreaktor Anaerobik. *Jurnal Chemurgy*, 4(2), 30. <https://doi.org/10.30872/cmng.v4i2.4591>
- Paray, A. A., Singh, M., & Amin Mir, M. (2023). Gram Staining: A Brief Review. *International Journal of Research and Review*, 10(9), 336–341. <https://doi.org/10.52403/ijrr.20230934>
- Patantis, G., & Fawzya, Y. N. (2009). Teknik Identifikasi Mikroorganisme Secara Molekuler. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 4(2), 72. <https://doi.org/10.15578/squalen.v4i2.146>
- Peele, K. A., Ch., V. R. T., & Kodali, V. P. (2016). Emulsifying activity of a biosurfactant produced by a marine bacterium. *3 Biotech*, 6(2), 177. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0494-7>
- Perinelli, D. R., Cespi, M., Lorusso, N., Palmieri, G. F., Bonacucina, G., & Blasi, P. (2020). Surfactant Self-Assembling and Critical Micelle Concentration: One Approach Fits All? *Langmuir*, 36(21), 5745–5753. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c00420>
- Petra de Oliveira Barros, V., Macedo Silva, J. R., Maciel Melo, V. M., Terceiro, P. S., Nunes de Oliveira, I., Duarte de Freitas, J., Francisco da Silva Moura, O., Xavier de Araújo-Júnior, J., Erlanny da Silva Rodrigues, E., Maraschin, M., Thompson, F. L., & Landell, M. F. (2024). Biosurfactants production by marine yeasts isolated from zoanthids and characterization of an emulsifier produced by *Yarrowia lipolytica* LMS 24B. *Chemosphere*, 355, 141807. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141807>
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., & Kirtikara, K. (2007). Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants. *FEMS Immunology & Medical*

- Microbiology*, 51(3), 517–525. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x>
- Poh, P. E., Yong, W.-J., & Chong, M. F. (2010). Palm Oil Mill Effluent (POME) Characteristic in High Crop Season and the Applicability of High-Rate Anaerobic Bioreactors for the Treatment of POME. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49(22), 11732–11740. <https://doi.org/10.1021/ie101486w>
- Prastya, M. E., Astuti, R. I., Batubara, & Wahyudi, A. T. (2019). Antioxidant, Antiglycation and in vivo Antiaging Effects of Metabolite Extracts from Marine Sponge-associated Bacteria. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81, 344–353.
- Prastya, M. E., Supriyadi, A., & Kusdiyantini, E. (2014). Eksplorasi Rhizobakteri Indigenous Tanaman Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* Linn.) Dari Pertanian Semi Organik Desa Batur Kabupaten Semarang Sebagai Agen Hayati Pengendali Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum* f.sp *capsici*. *Jurnal Biologi*, 3(3), 18–31.
- Pratama, F. A., Dewi, P., Mubarak, I., & Mustikaningtyas, D. (2025). Isolation, Characterization, and Identification of Biosurfactant-Production Bacteria from Used Cooking Oil Waste. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 11(2), 116–125. <https://doi.org/10.23917/bioeksperimen.v11i2.11115>
- Qamar, S. A., & Pacifico, S. (2023). Cleaner production of biosurfactants via bio-waste valorization: A comprehensive review of characteristics, challenges, and opportunities in bio-sector applications. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(6), 111555. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.111555>
- Rahmawati, F., & Suharjono, S. (2021). Potency of Endophytic and Rhizospheric Bacteria of Akar Kucing (*Acalypha indica* Linn.) as Antibacteria against *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Tropical Life Science*, 11(2), 171–179. <https://doi.org/10.11594/jtls.11.02.06>
- Raja, P. M., Giyanto, G., & Barus, S. (2021). *Characteristics Content Of Elements N, P, K In An-Aerobic Pond Of Liquid Palm Oil Mill Effluent With Bentonite Contact*. <https://ojs.unimal.ac.id/index.php/agrium>
- Ratnasari, I. F. D., Devi, D., & Yanuar Setyawan, I. A. (2024). Aplikasi Limbah Palm Oil Mill Effluent (POME) terhadap Sifat Kimia Tanah pada Perkebunan Kelapa Sawit. *Jurnal Media Pertanian*, 9(2), 113. <https://doi.org/10.33087/jagro.v9i2.247>
- Ravinder, P., Manasa, M., Roopa, D., Bukhari, N. A., Hatamleh, A. A., Khan, M. Y., M S, R., Hameeda, B., El Enshasy, H. A., Hanapi, S. Z., & Sayyed, R. Z. (2022). Biosurfactant producing multifarious *Streptomyces puniceus* RHPR9 of *Coscinium fenestratum* rhizosphere promotes plant growth in chilli. *PloS One*, 17(3), e0264975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0264975>

- Rengga, W. D. P., Riyadi, D. H. S., Bintang, A., & Kuntoro. (2018). Kajian Produksi Dan Proses Biosurfaktan Rhamnolipida Dari Limbah Industri Minyak Sawit Dan Turunannya Menggunakan *Pseudomonas Aeruginosa*. *PROSIDING SEMINAR NASIONAL ENERGI & TEKNOLOGI (SINERGI)*, 84–94.
- Rizvi, H., Singh, V., & Ashish. (2024). Screening and Characterization of Biosurfactant-producing Strains in Contaminated Soil. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 18(2), 1074–1084. <https://doi.org/10.22207/JPAM.18.2.24>
- Rohaeti, E., Karunina, F., & Rafi, M. (2020). FTIR-based Fingerprinting and Chemometrics for Rapid Investigation of Antioxidant Activity from *Syzygium polyanthum* Extracts. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(1), 128. <https://doi.org/10.22146/ijc.54577>
- Rolfe, M. D., Rice, C. J., Lucchini, S., Pin, C., Thompson, A., Cameron, A. D. S., Alston, M., Stringer, M. F., Betts, R. P., Baranyi, J., Peck, M. W., & Hinton, J. C. D. (2012). Lag Phase Is a Distinct Growth Phase That Prepares Bacteria for Exponential Growth and Involves Transient Metal Accumulation. *Journal of Bacteriology*, 194(3), 686–701. <https://doi.org/10.1128/JB.06112-11>
- Saifuddin, N., Saltanat, A., & Refal, H. (2014). Enhancing the Removal of Phenolic Compounds from Palm Oil Mill Effluent by Enzymatic Pre-treatment and Microwave-Assisted Extraction. *Chemical Science Transactions*. <https://doi.org/10.7598/cst2014.797>
- Saimmai, A., Udomsilp, S., & Maneerat, S. (2013). Production and characterization of biosurfactant from marine bacterium *Inquilinus limosus* KB3 grown on low-cost raw materials. *Annals of Microbiology*, 63(4), 1327–1339. <https://doi.org/10.1007/s13213-012-0592-7>
- Samsu, Z., `Asyiqin, Jeffry, F. N., & Azizan, W. N. A. N. W. A. R. (2020). Isolation and screening of potential biosurfactant-producing bacteria from used engine oil-contaminated soil. *Materials Today: Proceedings*, 31, A67–A71. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.438>
- Santos, E. C. L. dos, Miranda, D. A. dos R., Silva, A. L. dos S., & López, A. M. Q. (2019). Biosurfactant Production by *Bacillus* strains isolated from sugar cane mill wastewaters. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019170630>
- Sari, C. N., Hertadi, R., Harahap, A. F. P., Ramadhan, M. Y. A., & Gozan, M. (2020). Process Optimization of Palm Oil Mill Effluent-Based Biosurfactant of *Halomonas meridiana* BK-AB4 Originated from Bledug Kuwu Mud Volcano in Central Java for Microbial Enhanced Oil Recovery. *Processes*, 8(6), 716. <https://doi.org/10.3390/pr8060716>
- Sena, H. H., Sanches, M. A., Rocha, D. F. S., Segundo, W. O. P. F., de Souza, É. S., & de Souza, J. V. B. (2018). Production of Biosurfactants by Soil Fungi Isolated

- from the Amazon Forest. *International Journal of Microbiology*, 2018, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2018/5684261>
- Shalaby, E. A., & Shanab, S. M. M. (2013). Review Antioxidant compounds, assays of determination and mode of action. *Academic Journals*, 7(10), 528–539. <https://doi.org/10.5897/AJPP2013>
- Silhavy, T. J., Kahne, D., & Walker, S. (2010). The Bacterial Cell Envelope. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(5), a000414–a000414. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a000414>
- Siregar, S. N. H., & Hasibuan Abdurrazaq. (2024). Dampak Hilirisasi Industri Kelapa Sawit Terhadap Pembangunan Ekonomi Nasional. *Jurnal Intelek Insan Cendekia, I No: 4*. <https://jicnusanantara.com/index.php/jiic>
- Sobri, I. M., Halim, M., Lai, O.-M., Lajis, A. F., Yusof, M. T., Halmi, M. I. E., Johari, W. L. W., & Wasoh, H. (2018). Emulsification Characteristics of Rhamnolipids by *Pseudomonas aeruginosa* Using Coconut Oil as Carbon Source. *Journal of Environmental Microbiology and Toxicology*, 6(1), 7–12. <https://doi.org/10.54987/jemat.v6i1.400>
- Soleimaninanadegani, M., & Manshad, S. (2014). Enhancement of Biodegradation of Palm Oil Mill Effluents by Local Isolated Microorganisms. *International Scholarly Research Notices*, 2014, 727049. <https://doi.org/10.1155/2014/727049>
- Subekti, I., Sujono, T. A., & Suhendi, A. (2025). Antioxidant Activity of DPPH and ABTS Methods, from Jackfruit Leaf Extract and Fraction (*Artocarpus heterophyllus*) with ELISA Reader. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 27–34. <https://doi.org/10.23917/pharmacon.v22i1.10549>
- Sutartib, M., & Purwana, A. S. (2025). Potensi Penerimaan Ekspor dan Klasifikasi Produk Sampingan Pabrik Minyak Sawit berupa POME Oil dan Produk Sejenis. *Jurnal Perspektif Bea Dan Cukai*, 9(1), 35–52.
- Takahashi, M., Morita, T., Wada, K., Hirose, N., Fukuoka, T., Imura, T., & Kitamoto, D. (2011). Production of Sophorolipid Glycolipid Biosurfactants from Sugarcane Molasses Using *Starmerella bombicola*; NBRC 10243. *Journal of Oleo Science*, 60(5), 267–273. <https://doi.org/10.5650/jos.60.267>
- Tancredi, M., Carandente Coscia, C., Russo Krauss, I., & D’Errico, G. (2025). Antioxidant Properties of Biosurfactants: Multifunctional Biomolecules with Added Value in Formulation Chemistry. *Biomolecules*, 15(2), 308. <https://doi.org/10.3390/biom15020308>
- 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>

- Trikurniadewi, N. (2025). Isolasi dan Karakterisasi Mikroba Indigenus Penghasil Biosurfaktan dari Eco-enzyme. *Jurnal Kesehatan Vokasional*, 10(1). <https://doi.org/10.22146/jkesvo.101533>
- Ughy, B., Nagyapati, S., Lajko, D. B., Letoha, T., Prohaszka, A., Deeb, D., Der, A., Pettko-Szandtner, A., & Szilak, L. (2023). Reconsidering Dogmas about the Growth of Bacterial Populations. *Cells*, 12(10), 1430. <https://doi.org/10.3390/cells12101430>
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- van Heerden, C. D., & Nicol, W. (2013). Continuous and batch cultures of *Escherichia coli* KJ134 for succinic acid fermentation: metabolic flux distributions and production characteristics. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 80. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-80>
- Vinje, H., Almøy, T., Liland, K. H., & Snipen, L. (2014). A systematic search for discriminating sites in the 16S ribosomal RNA gene. *Microbial Informatics and Experimentation*, 4(1), 2. <https://doi.org/10.1186/2042-5783-4-2>
- Wicaksono, B., Pratimasari, D., & Lindawati, N. Y. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan ekstrak Etanol, Fraksi Polar, Semi Polar dan Non Polar Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) Dengan Metode ABTS. *Jurnal Kesehatan Kartika*, 16(3), 8894.
- Wiratantri, F. indah, Peranginangin, J. M., & Sulaiman, T. N. S. (2024). Optimization Of Curcumin Encapsulation Formula Design And Its Effect On Antioksidant Activity. In *Jurnal Kimia Riset* (Vol. 9, Number 2).
- 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>
- Yu, F., Du, Y., Deng, S., Jin, M., Zhang, D., Zhao, M., Yin, J., & Long, X. (2023). Efficient preparation of extremely high-purity surfactin from fermentation broth by ethanol extraction. *Separation and Purification Technology*, 304. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.122278>
- Zanotto, A. W., Kanemaru, M. Y. S., de Souza, F. G., Duarte, M. C. T., de Andrade, C. J., & Pastore, G. M. (2023). Enhanced antimicrobial and antioxidant capacity of *Thymus vulgaris*, *Lippia sidoides*, and *Cymbopogon citratus* emulsions when combined with mannosylerythritol a lipid biosurfactant. *Food Research International*, 163, 112213. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112213>
- Zhao, Y.-S., Eweys, A. S., Zhang, J.-Y., Zhu, Y., Bai, J., Darwesh, O. M., Zhang, H.-B., & Xiao, X. (2021). Fermentation Affects the Antioxidant Activity of Plant-Based Food Material through the Release and Production of Bioactive

Components. *Antioxidants*, 10(12), 2004.
<https://doi.org/10.3390/antiox10122004>

- Zia, K. Z., & Linda, T. M. (2023). Potensi *Bacillus* spp. Sebagai Penghasil Biosurfaktan untuk Pengolahan Limbah Minyak Pelumas. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 69–78. <https://doi.org/10.24002/biota.v8i2.6360>
- Zouari, R., Moalla-Rekik, D., Sahnoun, Z., Rebai, T., Ellouze-Chaabouni, S., & Ghribi-Aydi, D. (2016). Evaluation of dermal wound healing and in vitro antioxidant efficiency of *Bacillus subtilis* SPB1 biosurfactant. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 878–891. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.084>