

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF
ACTINOMYCETES SEDIMEN MANGROVE SERTA UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus***

(Skripsi)

Oleh
INDRA PRASETYA
NPM 1817011039



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

ABSTRAK

ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF ACTINOMYCETES SEDIMEN MANGROVE SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus*

Oleh

INDRA PRASETYA

Fenomena munculnya bakteri yang resisten terhadap antibiotik mendorong para peneliti untuk melakukan eksplorasi senyawa bioaktif baru. Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh isolat actinomycetes dari sedimen mangrove, mengetahui aktivitasnya sebagai antibakteri melalui *microdilution*, dan mengetahui karakteristik senyawanya. Actinomycetes sedimen mangrove ditumbuhkan pada media agar koloid kitin dan dilakukan pemeliharaan hingga didapatkan biakan murni. Isolat tunggal selanjutnya dikultivasi pada media padat kulit udang sebanyak 50 g dan diinkubasi dalam kondisi statis selama 14 hari. Kultur diekstraksi menggunakan etil asetat (EtOAc). Ekstrak kasar diskriminasi aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* menggunakan *microtiter plate 96-well*. Isolat potensial dikultivasi skala besar menggunakan 200 g kulit udang. Ekstrak kasar di fraksinasi melalui kromatografi kolom dan diuji aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus*. Fraksi aktif selanjutnya dikarakterisasi menggunakan LC-MS/MS dan FT-IR. Sampel sedimen mangrove diambil dari 3 titik di Kawasan Hutan Mangrove Sriminosari, Lampung Timur dan diperoleh sebanyak 7 isolat actinomycetes yang teridentifikasi genus *Streptomyces* dan *Planomonospora*. Skrining antibakteri dari ketujuh isolat menunjukkan isolat ISM 7 memiliki daya hambat yang paling besar terhadap *S. aureus*. Karakteristik senyawa yang dihasilkan oleh isolat potensial ISM 7 menunjukkan adanya senyawa golongan alkaloid dengan struktur dasar morfolin pada fraksi aktif ISM7K1F3 yang tersusun dari gugus fungsi O-H, C-H *stretching* alkana, C=O, C-N, C-H *bending* alkana, dan C-O.

Kata kunci: Sedimen mangrove, kitin, actinomycetes, antibakteri

ABSTRACT

ISOLATION AND CHARACTERIZATION BIOACTIVE COMPOUNDS ACTINOMYCETES MANGROVE SEDIMENT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY ASSAY AGAINST *Staphylococcus aureus*

By

INDRA PRASETYA

The phenomenon of emergence of bacteria that are resistant to antibiotics encourages researchers to explore new bioactive compounds. This study was conducted to obtain isolates of actinomycetes from mangrove sediment, to determine their antibacterial activity through microdilution, and to determine the characteristics of their compounds. Actinomycetes mangrove sediments were grown on colloidal chitin agar media and maintained until pure isolates were obtained. The pure isolates were cultivated on 50 g of shrimp shells solid media and incubated under static conditions for 14 days. The cultures were extracted using ethyl acetate (EtOAc). The crude extract was screened for its antibacterial activity against *S. aureus* using a 96-well microtiter plate. Potential isolate was scale up cultivated using 200 g of shrimp shells. The crude extract was fractionated by column chromatography and tested for its antibacterial activity against *S. aureus*. The active fraction was further characterized using LC-MS/MS and FT-IR. Mangrove sediment samples were taken from 3 points in the Sriminosari Mangrove Forest Area, East Lampung and obtained as many as 7 isolates of actinomycetes which indicated the genus *Streptomyces* and *Planomonospora*. Antibacterial screening of the seven isolates showed that ISM 7 isolates had the greatest inhibition against *S. aureus*. The chemical characteristics of the compounds produced by the potential isolate of ISM 7 in the active fraction ISM7K1F3 which is showed the presence of alkaloid compounds with a morpholine basic structure composed of functional groups O-H, C-H stretching alkanes, C=O, C-N, C-H bending alkanes, and C-O.

Key words: Mangrove sediment, chitin, actinomycetes, antibacterial

**ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF
ACTINOMYCETES SEDIMEN MANGROVE SERTA UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus aureus***

Oleh

INDRA PRASETYA

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS

Pada

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2022**

Judul Skripsi : **ISOLASI DAN KARAKTERISASI SENYAWA
BIOAKTIF ACTINOMYCETES SEDIMEN
MANGROVE SERTA UJI AKTIVITAS
ANTIBAKTERI TERHADAP *Staphylococcus
aureus***

Nama Mahasiswa : **Indra Prasetya**

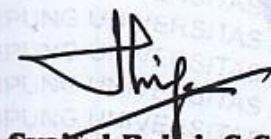
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011039


Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

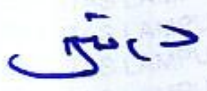
MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing


Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.
NIP 19730825 200003 1 001


Wawan A. Setiawan, S.Si., M.Si.
NIP 19791230 200812 1 001

2. Ketua Jurusan Kimia


Mulyono, Ph.D.
NIP 19740611 200003 1 002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Syaiful Bahri, S.Si., M.Si.



Sekretaris

: Wawan A. Setiawan, S.Si., M.Si.



Penguji

Bukan Pembimbing

: Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



Dr. Eng. Sripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP. 19740705 200003 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 16 November 2022

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama : Indra Prasetya
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011039
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul "**Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Actinomycetes Sedimen Mangrove serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus***" adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil penelitian, maupun analisisnya.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenar-benarnya dan penuh kesadaran untuk dapat digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 16 November 2022

Yang Menyatakan,



Indra Prasetya
NPM 1817011039

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama lengkap Indra Prasetya, lahir di Bandar Lampung, pada 20 Juli 2000. Penulis merupakan putra dari pasangan Bapak Rochmat dan Ibu Dede Komariah, dan merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara. Saat ini penulis bertempat tinggal di Jl. Adi Sucipto Gang. Podang, Kelurahan Tanjung Agung, Kecamatan Tanjung Karang Timur, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung.

Penulis memulai pendidikan formal di Taman Kanak-Kanak (TK) Al-Hidayah, Bandar Lampung pada tahun 2005 hingga 2006, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar (SD) Negeri 1 Tanjung Agung pada tahun 2006 hingga 2012. Pada tahun 2012 penulis melanjutkan pendidikan di Madrasah Tsanawiyah (MTs) Negeri 1 Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2015, kemudian penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Kejuruan-Sekolah Menengah Teknologi Industri (SMK SMTI) Bandar Lampung dengan jurusan Kimia Analisis dan selesai pada tahun 2018. Pada tahun 2018 penulis terdaftar sebagai Mahasiswa Universitas Lampung, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif berorganisasi dimulai sebagai kader muda Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) FMIPA Unila periode 2018, anggota divisi Penelitian dan Pengembangan Badan Pengurus Wilayah 1 Ikatan Himpunan Mahasiswa Kimia Indonesia (Bapewil 1 Ikahimki) periode 2018-2020, anggota bidang Sosial Masyarakat Himaki FMIPA Unila periode 2019, anggota bidang kaderisasi dan kepemimpinan Rohani Islam (Rois) FMIPA Unila periode 2019. Penulis diamanahkan sebagai Ketua Umum Himaki FMIPA Unila periode 2020,

sebagai anggota badan kewilayahan Bina Rohani Mahasiswa (Birohmah) Unila 2021, dan pernah menjabat sebagai Wakil Sekretaris Jenderal Badan Pengurus Pusat Ikatan Himpunan Mahasiswa Kimia Indonesia (BPP Ikahimki) 2020-2022. Penulis juga aktif sebagai anggota dari komunitas Pondok Inspirasi (Pondasi) Yayasan PT. Paragon Technology and Innovation tahun 2021.

Penulis merupakan mahasiswa penerima beasiswa Peningkatan Prestasi Akademik (PPA) tahun 2019, dan penulis pernah meraih beberapa prestasi, diantaranya Juara 2 Lomba Esai Nasional Himakua Unair 2019, Juara 3 Lomba LKTI-AN FPPI FKIP Unila 2020, Finalis Lomba Business Plan Competition HMIT IPB 2020, Penerima Danah Hibah Wirausaha Unila 2020, Juara 3 Lomba Kompetisi Film Mahasiswa FMIPA Unila 2020, Juara 1 Pilmapres Jurusan Kimia FMIPA Unila 2021, dan Finalis Pilmapres Tingkat FMIPA Unila 2021.

Penulis pernah mengikuti berbagai kegiatan kemahasiswaan, diantaranya seperti Membentuk Karakter (Mekar) Himaki FMIPA Unila 2018, Latihan Kepemimpinan dan Manajemen Islam Tingkat Dasar (LKMI-TD) Rois FMIPA Unila 2019, Latihan Kepemimpinan dan Manajemen Mahasiswa Tingkat Menengah (LKMM-TM) BEM FMIPA Unila 2019, dan Leadership Academy Nasional (Lead.ID) dari Pemimpin Indonesia 2021, selain itu ada pula kegiatan sosial yang diikuti seperti Chemistry Care Himaki FMIPA Unila 2019 di Desa Mandah, Natar, Lampung Selatan dan 2020 di desa Serdang, Tanjung Bintang, Lampung Selatan. Penulis pernah menjadi peserta Karya Wisata Ilmiah (KWI) BEM FMIPA Unila di Desa Tanjung Tirto, Kecamatan Way Bungur, Lampung Timur. Penulis juga pernah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode I tahun 2021 pada bulan Februari sampai Maret di Desa Sukabakti, Kecamatan Palas, Lampung Selatan. Pada bulan September sampai November 2021, penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPT-LTSIT Universitas Lampung dan menjalankan Studi Independen (SI) online di PT. Microsoft Indonesia. Pada bulan Maret sampai Agustus 2022 penulis menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Unit Pelaksana Teknis-Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi Universitas Lampung yang diberi Judul “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Actinomycetes Sedimen Mangrove serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*”.

MOTTO

“When I have a big dream, many support and many also underestimate, being laughed because dreams are a wonderful thing for me and make me excited, i have to trust that Allah swt is always with me and fulfill my big dreams.”

(Indra Prasetya)

“Rest assured, there is something waiting for you after a lot of patience (which you live), that will leave you stunned until you forget how painful the pain.”

(علي بن أبي طالب رضي الله عنه)

“Perbaikilah dirimu itu dan belajarlaha, dan bahagiakan ayah dan ibu yang telah melahirkanmu, menjagamu dan membesarkanmu karena kebahagiaan itu pun merupakan kebahagiaan untuk dirimu.”

(Sabo)

“Jika mimpimu belum ditertawakan orang lain, berarti mimpimu masih kecil.”

(モンキー・D・ルフィ)

PERSEMBAHAN



Dengan mengucap *Alhamdulillahirabbil 'aalamiin* segenap rasa syukur, kupersembahkan karya ini kepada:

Keluarga Tercinta

Ayah dan **Ibuku** yang selalu mendoakan, mendukung, dan mempercayai anaknya untuk menggapai cita-cita.

Kakak dan **Teteh** tersayang yang selalu menyayangi dan mendukung pilihan serta impian adiknya.

Dengan segala rasa hormat kepada:

Bapak Syaiful Bahri, M.Si., Bapak Wawan Abdullah Setiawan, M.Si., dan Bapak Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., serta seluruh Dosen Pengajar Jurusan Kimia yang telah membimbing dan mendidiku hingga mencapai gelar Sarjana.

Teman-temanku yang telah kebersamai, mendoakan, mendukung, dan memberikan semangat.

Almamater tercinta Universitas Lampung.

Kepada diriku sendiri yang telah berjuang.

SANWACANA

Alhamdulillah robbil 'alamin segala puji bagi Allah *subhanahu wata'ala* atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Bioaktif Actinomycetes Sedimen Mangrove serta Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Staphylococcus aureus*”. Sholawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad *shallallahu 'alaihi wassalam*, semoga kita diakui sebagai umatnya dan memperoleh syafaatnya, *Aamiin*.

Penulis menyadari bahwa dalam proses pengerjaan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari kesulitan dan rintangan, namun itu semua bisa terlewati berkat rahmat dan ridho Allah SWT serta bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, sehingga dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua dan keluarga penulis, yang telah mendo'akan, mendukung, memberikan semangat, memberikan afirmasi positif kepada penulis untuk dapat menyelesaikan pendidikan S1.
2. Bapak Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, S.Si., M.T., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
3. Bapak Mulyono, Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung yang telah memberikan semangat belajar sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan sarjana kimia.
4. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing I dan Pembimbing Akademik yang telah membimbing, mengarahkan, menasihati, memotivasi penulis, memberikan bantuan moril dan materiil.
5. Bapak Wawan Abdullah Setiawan, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing, memberikan semangat, dan memotivasi penulis.

6. Bapak Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji yang telah membimbing, memberikan arahan, nasihat, dan motivasi penulis serta selalu mengingatkan penulis untuk menjadi layaknya seorang sarjana.
7. Ibu Hapin Afriyani S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembina Himaki periode 2020 yang telah membantu, menyemangati, mengarahkan, membuka wawasan penulis untuk senantiasa semangat belajar dan menyelesaikan tanggung jawab.
8. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah mendidik, membimbing, dan memberikan semangat kepada penulis.
9. Seluruh laboran, staff, dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah membantu penulis menyelesaikan studi.
10. Rekan-rekan seperbimbingan “Syaiful Bahri Research”, Brader Lanang Rachmadi, Brader M. Ikhsan Indrawan, dan Sister Reyzka Aulia Wihardini yang telah memberikan semangat, mendengarkan keluh kesah penulis, memberikan kesan baik, memotivasi, kritik, dan saran hingga saya bisa menyelesaikan studi.
11. Kakak-kakak Biomass Squad dan Biopolimer, Annisa Elcentia, Fendi Setiawan, Nafila Khansa, Arik Irawan, Tya Gita, Rosyidatul Lutfiah, Saras Khairani, Rizky Fadhilah, Ikromuddin, Zahrah Khairani, Merriezka Ismaini, Nia Kurniasih, Anisya Reika, Azizah Malik, dan Lisa Maryati yang telah memberikan arahan kepada penulis selama di laboratorium.
12. Rekan-rekan penelitian Biomass squad dan Biopolimer Chasya Al Afandy, Mega Muryani, Ika Wahyu, Wulandari, Firda Tiara, Irma Fitria, Annisa Larasati, Fauzia Sabrina, Anggi Lefiyani, Adinda, dan Dian yang telah sama-sama berjuang menyelesaikan penelitian, berbagi pengalaman, suka dan duka, semoga bisa bertemu kembali dengan versi terbaiknya di masa depan.
13. Rekan terdekatku, Randi, Lanang, Chasya, Chori, Fauzan, Ikhsan, Afra, Nisa, Aryani, Reyzka, dan Mega yang telah memberikan bantuan moril dan menyemangati penulis hingga dapat menyelesaikan skripsi.
14. Keluarga besar kimia angkatan 2018 tercinta, terima kasih telah sama-sama berjuang menikmati masa-masa sulit, tertekan, ceria, semangat kuliah, kalian luar biasa, dan terima kasih atas kepercayaannya selama ini.

15. Rekan-rekan pimpinan Himaki FMIPA Unila periode 2020, Nur Mayana, Savira Olga, Fauzan Rafi, Yanesta Oxvyena, Lanang Rachmadi, Khairunisa, Randi Septianto, Indah Permatasari, Aan Saputra, Rizka Nalia, Armidla Nadya, Farah Danisha, Andira Rahma, dan Annida Rezani, yang telah berjuang dengan penuh semangat, terima kasih atas seluruh kenangan yang tak terlupakan, atas semangat, doa, motivasi, kritik yang telah diberikan, aku tanpa kalian bukanlah apa-apa, sampai bertemu lagi dan sukses selalu.
16. Keluarga besar Himaki 2020, terima kasih telah bersama-sama melewati satu periode kepengurusan yang luar biasa, satu tahun yang penuh dengan kreativitas melawan kondisi pandemi Covid-19, semangat yang hebat untuk terus belajar, semoga kita semua menjadi orang sukses dimasa depan, *aamiin*.
17. Keluarga BPP Ikahimki 2020-2022, terima kasih atas kesempatannya bertukar pikiran, pengalaman, menjalankan kepengurusan LDR, kalian hebat.
18. Teman-teman Chemboy 2018, Randi, Lanang, Chasya, Chori, Fauzan, Hendriko, Rifki, Widi, Ridho, Raifar, Ikhsan, Sahrul, Andika, Andi, Reyhan, Polado, Nanda, dan Vincent, yang telah kebersamai penulis selama kuliah, bertukar cerita, kumpul bareng, canda dan tawa, sukses selalu boy.
19. Rekan-rekan “kontrakan”, Chori, Chasya, Randi, kak Rizky, kak Muhlis, kak Rois, kak Kadek, kak Ocad, kak Arif, kak Arya, kak Alfa, atas aktivitas dan keseruan yang dibangun, semoga dilancarkan rezekinya dan sehat selalu.
20. Semua pihak lainnya yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu per satu. Terima kasih.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, Penulis menyampaikan permohonan maaf atas segala kekurangan tersebut. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bandar Lampung, 16 November 2022

Penulis,

Indra Prasetya

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
1.3. Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Ekosistem Mangrove	4
2.2. Sedimen Mangrove.....	5
2.3. Actinomycetes Sedimen Mangrove.....	5
2.4. Identifikasi Morfologi Actinomycetes	6
2.5. Potensi Senyawa Bioaktif Alkaloid Actinomycetes.....	7
2.6. Kitin.....	8
2.7. <i>Solid State Fermentation</i> (SSF).....	10
2.8. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder	11
2.9. Resistensi Antibiotik	12
2.10. <i>Chloramphenicol</i>	13
2.11. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	13
2.12. Pengujian Antibakteri.....	14
2.13. Metode Pemisahan dan Pemurnian Kromatografi.....	15
2.14. Karakterisasi Senyawa.....	17
2.15.1. <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS).....	17
2.15.2. <i>Fourier Transform Infra Red Spectrophotometry</i> (FT-IR).....	18

III. METODE PENELITIAN	20
3.1. Waktu dan Tempat.....	20
3.2. Alat dan Bahan	20
3.3. Prosedur Penelitian	21
3.3.1. <i>Sampling</i> Material	21
3.3.2. Isolasi Actinomycetes Sedimen Mangrove	21
3.3.3. Identifikasi Mikroskopis Actinomycetes Sedimen Mangrove	21
3.3.4. Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>S. aureus</i>	22
3.3.5. Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	23
3.3.6. Kultivasi dan Ekstraksi (<i>Scale Up</i>)	23
3.3.7. Fraksinasi Kromatografi Kolom	23
3.3.8. Karakterisasi Senyawa	24
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
4.1. <i>Sampling</i> Material	25
4.2. Isolasi Actinomycetes Sedimen Mangrove	27
4.3. Identifikasi Mikroskopis Isolat Actinomycetes Sedimen Mangrove	30
4.4. Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>S. aureus</i>	32
4.5. Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis	33
4.6. Kultivasi dan Ekstraksi (<i>Scale Up</i>).....	34
4.7. Fraksinasi Kromatografi Kolom.....	36
4.8. Karakterisasi Senyawa.....	41
4.8.1. <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometer</i> (LC-MS/MS)	41
4.8.2. <i>Fourier Transform Infra Red Spectrophotometer</i> (FT-IR)	44
V. SIMPULAN DAN SARAN	45
5.1. Simpulan.....	45
5.2. Saran	45
DAFTAR PUSTAKA	46
LAMPIRAN	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Persentase kandungan kitin.....	9
2. Tekstur sampel sedimen mangrove dari 3 titik <i>sampling</i> di Kawasan Hutan Mangrove Sriminosari, Lampung Timur.....	26
3. Identifikasi makroskopis isolat actinomycetes sedimen mangrove	28
4. Identifikasi mikroskopis isolat actinomycetes sedimen mangrove.....	30
5. KLT hasil fraksinasi ekstrak kasar ISM 7 (fraksi 1-14).....	38
6. Analisis puncak kromatogram TIC sampel ISM7K1F3.....	41
7. Pengamatan pertumbuhan isolat actinomycetes pada media cair koloid kitin selama 7 hari.....	58
8. Pengamatan pertumbuhan isolat actinomycetes pada media kulit udang selama 14 hari.....	59
9. Nilai absorbansi pertumbuhan <i>S. aureus</i> setelah ditambahkan ekstrak kasar (<i>crude</i>)	62
10. Nilai absorbansi pertumbuhan <i>S. aureus</i> setelah ditambahkan ekstrak hasil fraksinasi (fraksi gabungan).....	62

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jenis rantai spora actinomycetes (Barka <i>et al.</i> , 2016).....	7
2. Struktur kimia kitin (Santos <i>et al.</i> , 2020).....	8
3. Proses ekstraksi kitin (Santos <i>et al.</i> , 2020).	9
4. Daftar patogen prioritas menurut WHO (Jubeh <i>et al.</i> , 2020).....	12
5. Reduksi resazurin menjadi resorufin (Elshikh <i>et al.</i> , 2016).....	14
6. Lokasi <i>sampling</i> sedimen mangrove di Kawasan Hutan Mangrove Sriminosari, Lampung Timur.....	25
7. Pengamatan makroskopis (a) biakan campuran dan (b) biakan murni.	27
8. Pertumbuhan <i>S. aureus</i> setelah penambahan ekstrak kasar (crude).....	32
9. KLT ekstrak kasar (<i>crude</i>) dengan eluen n-Heksana 7:3 etil asetat (a) UV 254 nm; (b) serium (IV) sulfat; dan (c) <i>Dragendorff</i>	34
10. Pertumbuhan actinomycetes strain ISM 7 (a) media koloid kitin cair 7 hari dan (b) media fermentasi padat kulit udang 14 hari.	35
11. KLT ekstrak kasar ISM 7 dengan eluen n-Heksana 9:1 etil asetat (a) UV 254 nm; (b) serium (IV) sulfat; dan (c) <i>Dragendorff</i>	36

12. KLT ekstrak kasar ISM 7 dengan eluen n-Heksana 7:3 etil asetat (a) UV 254 nm; (b) serum (IV) sulfat; dan (c) <i>Dragendorff</i>	37
13. Fraksinasi ekstrak kasar ISM 7 melalui kromatografi kolom.	37
14. Pertumbuhan <i>S. aureus</i> setelah penambahan ekstrak fraksi.....	39
15. Sampel ISM7K1F3 (a) sebelum dipisahkan dan (b) sesudah dipisahkan.....	39
16. KLT sampel ISM7K1F3 dengan eluen n-Heksana 7:3 etil asetat (a) UV 245 nm; (b) serum (IV) sulfat; dan (c) <i>Dragendorff</i>	40
17. KLT sampel ISM7K1F3 pada reagen serum (IV) sulfat dengan eluen (a) kloroform 7:3 etil asetat dan (b) kloroform 9:1 eter.	40
18. <i>Total Ion Chromatogram</i> (TIC) sampel ISM7K1F3.....	41
19. Kromatogram LC-MS/MS sampel ISM7K1F3 waktu retensi 17,38 menit. ...	42
20. Perkiraan struktur senyawa <i>peak</i> 17,38 sampel ISM7K1F3.	43
21. Stuktur dasar morfolin.....	43
22. Spektrum FT-IR sampel ISM7K1F3.....	44
23. Pengamatan resazurin hasil skrining antibakteri ekstrak kasar (<i>crude</i>) terhadap <i>S. aureus</i>	63
24. Pengamatan resazurin hasil skrining antibakteri ekstrak fraksi gabungan terhadap <i>S. aureus</i>	64

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kesehatan manusia semakin terancam dengan munculnya patogen resisten antibiotik dan menurunnya penemuan serta pengembangan antibiotik baru. Resistensi antibiotik merupakan kemampuan bakteri untuk melawan efek antibiotik yang sebelumnya sensitif. Data literatur menunjukkan adanya 700.000 kasus kematian per tahun akibat terjadinya infeksi bakteri yang resisten terhadap obat. Jika senyawa antimikroba baru tidak segera dikembangkan, maka diprediksikan infeksi tersebut akan menyebabkan 10 juta kematian setiap tahun pada tahun 2050 mendatang (Shankar, 2016).

Dampak dari resistensi antibiotik dapat menghambat pencapaian tujuan pembangunan berkelanjutan, seperti kesehatan, ketahanan pangan, air bersih dan sanitasi (Bryan-Wilson, 2016). *World Health Organization* (WHO) menerbitkan daftar patogen prioritas yang resisten terhadap antibiotik. Daftar tersebut terdiri dari 12 famili bakteri yang dianggap sebagai ancaman terbesar bagi kesehatan manusia (*Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) Report*, 2017). Bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk *methicillin* resisten *S. aureus* (MRSA) merupakan bakteri yang masuk dalam daftar patogen prioritas yang resisten terhadap antibiotik. Bakteri *S. aureus* banyak ditemukan pada kulit, rambut, hidung, dan saluran pernapasan manusia dan hewan. Patogen tersebut juga bertanggung jawab atas berbagai infeksi kronis yang parah, seperti sepsis, pneumonia, infeksi luka kronis (O'Callaghan, 2018). Pengembangan dan penemuan senyawa metabolit sekunder baru dari bahan alam penting untuk dieksplorasi guna dijadikan sebagai antibiotik baru dalam mengatasi bakteri patogen resisten tersebut.

Produk alami merupakan sumber penting senyawa antibakteri baru dan sangat efektif yang dapat digunakan dalam memerangi resistensi obat yang tumbuh karena munculnya fenotipe bakteri yang resisten terhadap obat. Bahan alam yang berasal dari lingkungan laut menyediakan reservoir penyembuhan potensial terhadap penyakit kanker, bakteri, jamur, parasit, dan virus. Salah satu organisme laut yang sangat potensial berasal dari ekosistem mangrove (Thatoi *et al.*, 2013). Keunikan yang dimiliki ekosistem mangrove meliputi keanekaragaman flora, fauna, dan habitat tempat hidupnya. Perakaran mangrove mampu menjadi penghalang bagi daun mangrove yang gugur agar tidak terbawa arus sehingga dapat digunakan sebagai sumber bahan organik. Sedimen mangrove juga mendukung dan membantu pembentukan kerja sama lingkungan mikro aerobik dan anaerobik serta pengaruh kondisi lingkungan yang ekstrem dapat meningkatkan keanekaragaman komunitas mikroorganisme di dalam sedimen (Law *et al.*, 2019). Beragam mikroorganisme termasuk actinomycetes, bakteri, jamur, cyanobacteria, mikroalga, makroalga, dan protozoa, yang menghasilkan senyawa metabolit sekunder, seperti saponin, tanin, flavonoid, alkaloid, terpen, peptida, poliketida, dan molekul terhalogenasi (Simões *et al.*, 2015). Fakta tersebut menunjukkan bahwa ekosistem mangrove menjadi sumber penting untuk dieksplorasi guna mendapatkan senyawa bioaktif baru yang dapat dijadikan sebagai produk antibiotik baru (Sharma *et al.*, 2019).

Ekosistem mangrove di Indonesia sangat luas, namun penelitian mengenai senyawa bioaktif antibakteri yang berasal dari sedimen mangrove belum banyak dieksplorasi khususnya di provinsi Lampung. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini difokuskan pada penemuan senyawa bioaktif actinomycetes sedimen mangrove di kawasan hutan mangrove Sriminosari, Lampung Timur yang diisolasi pada media koloid kitin agar. Isolat actinomycetes yang tumbuh diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Isolat diskriming aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* dengan metode mikrodilusi untuk memperoleh isolat unggul dengan aktivitas tertinggi yang selanjutnya dikultivasi skala besar untuk memproduksi senyawa metabolit sekunder menggunakan media kulit udang (*solid state fermentation*) yang mengandung kitin, protein, dan mineral sebagai nutrisi bagi pertumbuhan actinomycetes. Hasil kultivasi dimaserasi menggunakan etil asetat dan dipekatkan.

Ekstrak diidentifikasi komponen senyawanya melalui kromatografi lapis tipis dan dilakukan fraksinasi melalui kromatografi kolom. Hasil fraksinasi diskriminasi aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* untuk mendapatkan fraksi aktif yang selanjutnya dimurnikan hingga mendapatkan satu *spot* senyawa pada KLT. Senyawa yang diperkirakan sudah murni dikarakterisasi dengan beberapa instrumen, seperti *Liquid Chromatography Mass Spectrometer* (LC-MS/MS) untuk mengetahui berat molekul (m/z) dan perkiraan struktur senyawa, dan menggunakan *Fourier Transform Infra Red Spectrometer* (FT-IR) untuk mengonfirmasi gugus fungsi yang terdapat pada senyawa bioaktif.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan isolat actinomycetes yang berasal dari sedimen mangrove Sriminosari, Lampung Timur.
2. Mengetahui aktivitas antibakteri dari isolat actinomycetes terhadap *Staphylococcus aureus* dengan metode *microdilution*.
3. Mengetahui karakteristik senyawa bioaktif dari isolat unggul actinomycetes menggunakan LC-MS/MS dan FT-IR.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini, yaitu memberikan informasi mengenai potensi actinomycetes sedimen mangrove di Kawasan Hutan Mangrove Sriminosari, Lampung Timur dan aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* serta karakteristik senyawa bioaktif yang dihasilkan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ekosistem Mangrove

Indonesia memiliki 3,3 juta hektar hutan mangrove yang terdiri dari 2,2 juta hektar di dalam kawasan hutan dan 1,3 juta ha di luar kawasan hutan (Nurbaya, 2020). Keanekaragaman dan sebaran mangrove di seluruh nusantara diantaranya Jawa (166 spesies), Sumatera (157 spesies), Kalimantan (150 spesies), Papua (142 spesies), Sulawesi (135 spesies), Maluku (133 spesies), dan Kepulauan Sunda Kecil (120 spesies) (Kusmana, 2014). Indonesia menjadi negara terbesar di Asia yang memiliki hutan mangrove, salah satunya tersebar di kawasan pesisir Labuhan Maringgai Kabupaten Lampung Provinsi Lampung Timur, terdapat beberapa jenis mangrove di Labuhan Maringgai, seperti *Avicenna marina*, *Rhizophora mucronate*, *Avicenna officinalis*, dan *Rhizophora apiculate* (Herison *et al.*, 2021).

Hutan mangrove merupakan ekosistem pesisir yang terdapat pada wilayah peralihan antara laut dan darat serta berada di daerah tropis maupun subtropis (Debbab *et al.*, 2013). Mangrove mengalami kondisi lingkungan yang ekstrem dengan kandungan garam air yang berfluktuasi, suhu yang berubah, dan berlumpur anoksik. Ekosistem mangrove mencakup seperempat dunia dari garis pantai tropis yang menjadikannya sebagai pendorong utama untuk mentransfer materi organik dari daratan ke lautan (Simões *et al.*, 2015). Mangrove adalah ekosistem unik dengan salinitas tinggi, nilai pH rendah, dan perendaman pasang surut berkala. Kompleksitas lingkungan ekosistem mangrove inilah yang menyebabkan keanekaragaman mikroorganisme termasuk actinomycetes (Guo *et al.*, 2015; He *et al.*, 2019). Mangrove setiap tahun menyerap dua hingga empat kali lebih banyak karbon dibandingkan dengan hutan tropis dewasa (Giri, 2021). Ekosistem ini

menawarkan banyak keuntungan lingkungan bagi populasi manusia, antara lain seperti penyerapan karbon, penyerap nutrisi yang difasilitasi oleh denitrifikasi dan fiksasi nitrogen, dan menstabilisasi garis pantai akibat redaman gelombang (Adame *et al.*, 2018; Barbier, 2016; Románach *et al.*, 2018).

2.2. Sedimen Mangrove

Sedimen mangrove merupakan sumber penting senyawa organik dan obat antibiotik. Lingkungan ekstrem sedimen mangrove menunjukkan salinitas dan suhu tinggi, konsentrasi oksigen rendah, paparan sinar UV yang kuat, dan kepadatan mikroba yang tinggi karena masukan nutrisi organik yang kuat dari akar mangrove. Lingkungan ekstrem seperti itu dapat memaksa mikroba untuk bersaing satu sama lain dengan memproduksi senyawa baru, beberapa di antaranya dapat dikembangkan sebagai antibiotik baru (Solntsev *et al.*, 2019). Jenis mikroorganisme yang berasal dari sedimen mangrove seperti actinomycetes dapat menghasilkan banyak senyawa bioaktif baru. Beberapa senyawa bioaktif yang dihasilkan, seperti alkaloid, terpenoid, steroid, dan poliketida. Senyawa ini memiliki berbagai aktivitas, antara lain sebagai antibakteri, penghambat enzim, antiinflamasi, antioksidan, antivirus, dan aktivitas sitotoksik (Cai *et al.*, 2021).

2.3. Actinomycetes Sedimen Mangrove

Actinomycetes merupakan sekelompok bakteri Gram-positif dengan kandungan guanin dan sitosin yang tinggi dalam DNA mereka dan bersifat terestrial atau akuatik. Mereka termasuk golongan uniseluler seperti bakteri, tidak memiliki dinding sel yang berbeda, namun menghasilkan miselium yang tidak bersekat dan lebih ramping. Actinomycetes berkembang biak dengan pembelahan biner atau dengan menghasilkan spora atau konidia, mereka biasa tumbuh dan berkembangbiak di tanah, air tawar, dan laut. Actinomycetes menghasilkan berbagai metabolit sekunder dengan kepentingan farmakologi dan komersial yang tinggi, selain itu mereka juga berfungsi untuk mendegradasi atau menguraikan

segala macam zat organik, seperti selulosa, polisakarida, lemak, protein, asam organik, dan sebagainya (Anandan *et al.*, 2016).

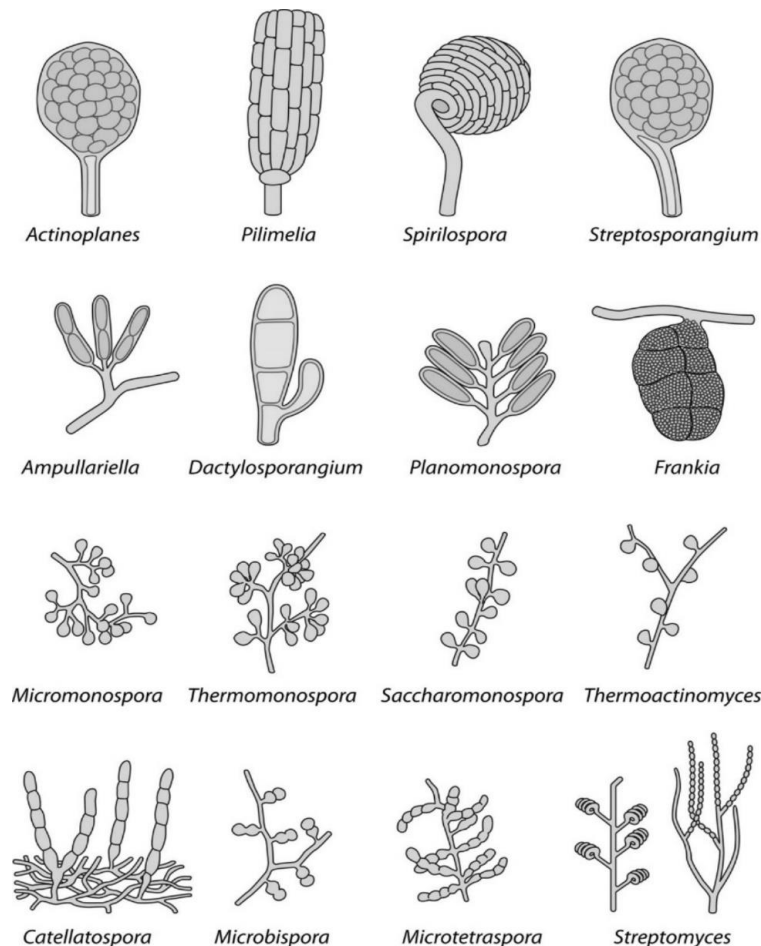
Actinomycetes dikategorikan menjadi dua genera, yaitu *Streptomyces* dan non-*Streptomyces* atau dikenal dengan istilah *rare-actinomycetes*. Marga *Streptomyces*, *Micromonospora*, dan *Nocardioform* ditemukan berlimpah, yaitu 1.000 hingga 10.000 kali lebih besar (Schneider *et al.*, 2006). Sejumlah besar dari jenis antibiotik yang telah diisolasi dari actinomycetes berasal dari genus *Streptomyces* (Law *et al.*, 2019). Sementara genera non-*Streptomyces* yang dikenal actinomycetes langka, seperti *Microbacterium*, *Jishengella*, *Salinispora*, *Planomonospora*, *Saccharopolyspora*, *Sinomonas*, dan *Nocardiosis* (Azman *et al.*, 2016).

Habitat actinomycetes pada ekosistem mangrove masih sangat sedikit yang dieksplorasi, meskipun banyak potensi actinomycetes yang dapat menghasilkan senyawa antimikroba yang sebelumnya ditemukan di daerah tersebut (Azman *et al.*, 2015). Lingkungan mangrove dicirikan oleh fluktuasi tertentu dalam kondisi lingkungan, seperti suhu yang ekstrem, pengaruh gelombang laut, atau bahkan radiasi yang tinggi. Actinomycetes dapat tumbuh dan berkembang biak di lingkungan ini karena tahan terhadap air dan suhu tinggi, dan kecukupan nutrisi yang tersedia. Actinomycetes juga memiliki fleksibilitas fisiologis dan metabolisme yang dapat memicu produksi senyawa metabolit sekunder untuk kelangsungan hidup dalam kondisi ekstrem. Mangrove telah dianggap sebagai salah satu sumber daya yang kaya untuk mengisolasi actinomycetes. Dilaporkan juga telah terjadi peningkatan jumlah strain *Streptomyces* yang berasal dari mangrove yang menunjukkan bioaktivitas yang kuat seperti antimikroba, antikanker, dan antioksidan (Mangamuri *et al.*, 2016; Tan *et al.*, 2018).

2.4. Identifikasi Morfologi Actinomycetes

Pengamatan spora sangat penting dalam taksonomi actinomycetes, spora dapat terbentuk pada substrat dan/atau miselium udara sebagai sel tunggal atau dalam rantai dengan panjang yang berbeda. Jumlah spora per rantai spora sangat bervariasi dari genus ke genus. Pengamatan morfologis actinomycetes, termasuk

perpanjangan dan percabangan miselium vegetatif, perkecambahan spora, pembentukan miselium udara, warna miselium udara dan substrat, dan produksi pigmen, telah digunakan untuk mengidentifikasi actinomycetes. Mikroskop optik digunakan untuk mengamati bentuk spora, miselium udara dan substrat miselium (Anandan *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2016). Beberapa jenis spora actinomycetes menurut dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Jenis rantai spora actinomycetes (Barka *et al.*, 2016).

2.5. Potensi Senyawa Bioaktif Alkaloid Actinomycetes

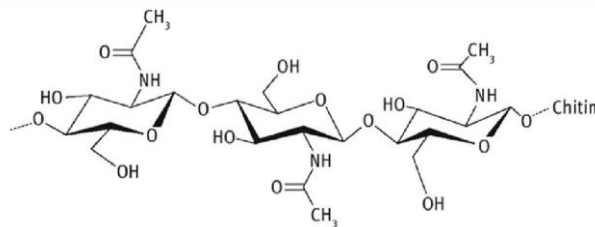
Actinomycetes diketahui telah banyak memproduksi berbagai senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas yang beragam, sebagian besar actinomycetes laut adalah genus *Streptomyces*. Penelitian ini difokuskan pada senyawa target berupa alkaloid sebagai zat antibakteri yang berasal dari actinomycetes (Wang *et al.*, 2021). Alkaloid merupakan kelompok produk alami yang besar dan beragam secara

struktural yang berasal dari mikroba, tumbuhan, maupun hewan. Alkaloid telah diketahui memiliki potensi yang tinggi karena keberagaman akan bioaktivitasnya dan menjadi inspirasi bagi pengembangan obat-obatan antibakteri. Senyawa alkaloid ditandai dengan adanya atom nitrogen sebagai penyusun utamanya. Berbagai hasil penelitian telah banyak ditemukan senyawa alkaloid yang berhasil diisolasi dari actinomycetes laut (Ryu *et al.*, 2019; Shaala *et al.*, 2020).

2.6. Kitin

Penggunaan kembali limbah dari industri perikanan bukanlah praktik yang umum, dan sebagian besar biomassa limbah dibuang langsung ke lingkungan tanpa pengolahan sebelumnya. Setiap bahan yang tidak digunakan selama proses produksi atau konsumsi dapat menyebabkan kerusakan lingkungan jika tidak dikelola dengan baik. Jenis limbah ini merupakan sumber bahan baku dengan manfaat yang tinggi dan dapat digunakan untuk menghasilkan *biocompounds* seperti kitin (Santos *et al.*, 2020).

Kitin termasuk jenis polimer alam yang memiliki struktur kristal yang sangat terorganisir, yaitu mengandung nitrogen, berwarna putih, keras, dan memiliki reaktivitas kimia yang rendah. Kitin termasuk polisakarida yang paling melimpah kedua di alam setelah selulosa, memiliki sifat tidak larut dalam air dan pelarut organik serta memiliki berat molekul tinggi. Secara kimiawi kitin terdiri dari unit N-asetil-2-amino-2-deoksi-D-glukosa yang disatukan oleh ikatan glikosidik (1→4) yang dapat dilihat pada **Gambar 4** (Chen *et al.*, 2019).



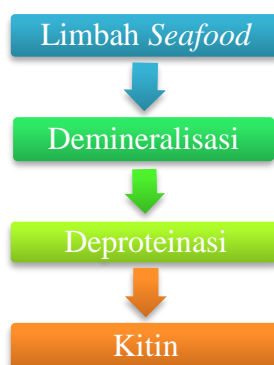
Gambar 2. Struktur kimia kitin (Santos *et al.*, 2020).

Kitin merupakan elemen utama dari eksoskeleton invertebrata laut dapat ditemukan dalam struktur serangga, artropoda, dan moluska. Cangkang kepiting dan udang merupakan sumber utama kitin karena kandungan kitinnya yang tinggi dan hasil tahunan yang besar. Terdapat rincian kandungan protein dan kitin dari berbagai jenis limbah makanan laut menurut Alabaraoye *et al.* (2018) yang tercantum pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Persentase kandungan kitin

Jenis Limbah	%Protein	%Kitin
Cangkang tiram	98,85	69,65
Kulit Kerang	86,42	35,03
Kepiting	63,73	60,00
Kulit udang	58,80	40,89

Metode ekstraksi kimia kitin terdiri dari dua langkah dasar, yaitu deproteinisasi dengan larutan basa dan demineralisasi dengan larutan asam. Langkah ini berhubungan langsung dengan sifat fisikokimia kitin yang diperoleh. Sumber untuk ekstraksi kitin meliputi pencucian, pengeringan, dan penggilingan partikel (Santos *et al.*, 2019). Ekstraksi kitin yang dilakukan seperti tertera pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Proses ekstraksi kitin (Santos *et al.*, 2020).

Demineralisasi adalah proses penghilangan mineral terutama kalsium karbonat dengan menggunakan asam kuat (Sugiyanti *et al.*, 2018). Asam yang paling umum digunakan dalam proses pengolahan ini adalah asam sulfat, asam klorida, asam

asetat, asam nitrat, dan asam format. Demineralisasi terjadi melalui dekomposisi kalsium karbonat menjadi kalsium klorida, dengan pelepasan karbon dioksida, seperti yang ditunjukkan pada reaksi di bawah ini:



Prose selanjutnya yaitu deproteinsasi yang melibatkan gangguan ikatan kimia antara protein dan kitin, membutuhkan bahan kimia untuk depolimerisasi biopolimer. Jenis ekstraksi ini terdiri dari penggunaan larutan basa kuat, seperti hidrolisis dengan natrium hidroksida pada suhu dan konsentrasi tinggi, menyebabkan pemutusan rantai polimer (Avelelas *et al.*, 2019).

2.7. *Solid State Fermentation (SSF)*

Solid state fermentation merupakan proses fermentasi yang melibatkan matriks padat dengan jumlah yang sangat rendah atau tanpa air bebas, untuk mendukung metabolisme dan pertumbuhan mikroorganisme, serta jumlah kelembapan dalam substrat harus tercukupi (Singhania *et al.*, 2009; Soccol *et al.*, 2017). Sumber nutrisi atau karbon yang berasal dari matriks padat tersebut dimanfaatkan oleh mikroorganisme untuk mendukung perkembangan, pertumbuhan, dan aktivitas metabolismenya. Mikroorganisme mengeluarkan enzim untuk mendegradasi molekul substrat yang dibutuhkan selama fermentasi. Substrat padat dan sifat mikroorganisme merupakan parameter penting yang memengaruhi hasil produksi dan proses SSF (Suresh *et al.*, 2011). Metode *solid state fermentation* (SSF) memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan *submerged fermentation* (SmF), diantaranya sederhana, biaya yang relatif rendah, potensi sumber daya substrat yang melimpah, produktivitas fermentasi dan stabilitas yang lebih tinggi, permintaan sterilitas yang lebih rendah, dan rendahnya kemungkinan untuk kontaminasi (Singhania *et al.*, 2009). Beberapa contoh limbah padat yang dapat digunakan, yakni limbah agroindustri (kulit nanas, ampas tebu, dedak gandum, dan sebagainya), dan limbah makanan laut (kulit udang, cangkang kepiting, dan sebagainya) (Ooi *et al.*, 2021; Sath *et al.*, 2018).

Bahan baku untuk teknologi fermentasi padat dapat menggunakan limbah kulit udang yang relatif murah dan ketersediaannya yang cukup melimpah karena masih minimnya pengolahan limbah kulit udang. Limbah udang mengandung zat-zat yang bermanfaat, seperti kitin, protein, dan kalsium karbonat (Hamed *et al.*, 2016). Penerapan limbah kulit udang sebagai bahan baku teknologi fermentasi padat dapat mencegah pencemaran lingkungan yang berkelanjutan. Teknologi *solid state fermentation* (SSF) digunakan untuk memberikan nilai tambah produk yang dihasilkan melalui mikroorganisme seperti actinomycetes yang mampu menguraikan kulit udang untuk memproduksi metabolit sekunder salah satunya zat antibiotik (Yazid *et al.*, 2017).

2.8. Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

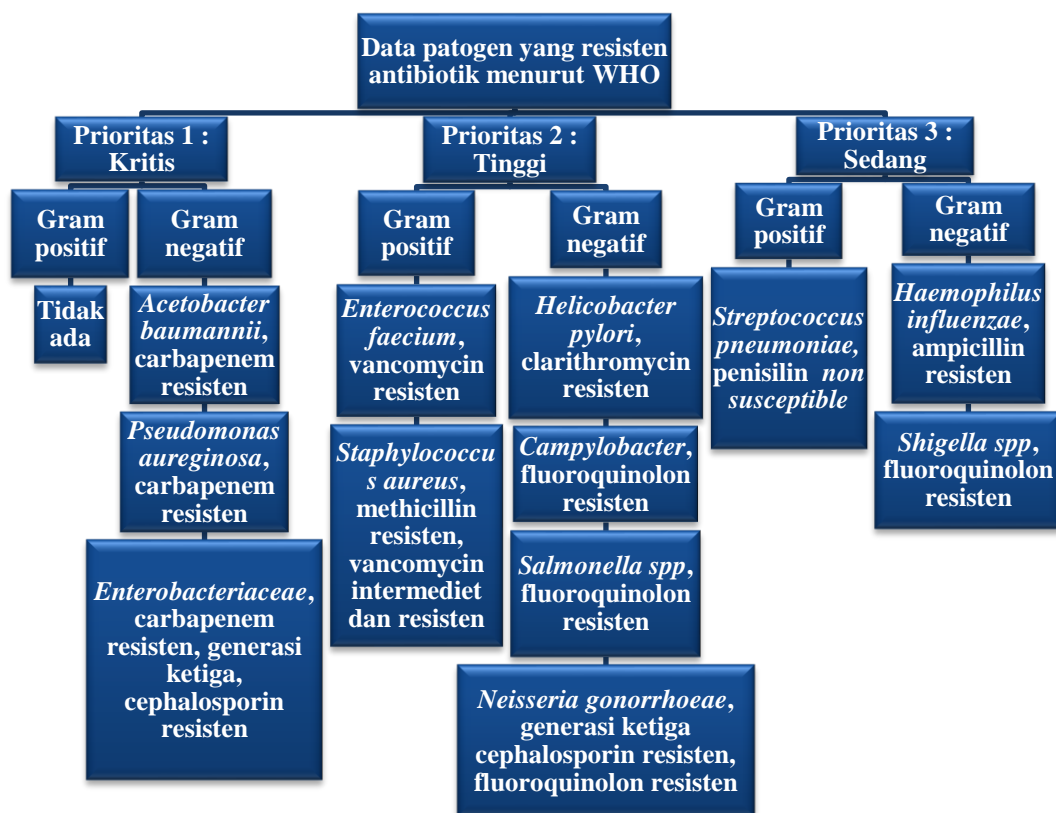
Ekstraksi adalah suatu teknik yang dilakukan dalam isolasi dan pemurnian komponen suatu senyawa. Metode ekstraksi yang bervariasi telah digunakan untuk mengekstrak berbagai senyawa. Secara umum ekstraksi dibagi menjadi dua, yakni tradisional dan modern. Metode ekstraksi tradisional meliputi maserasi, maserasi dibantu dengan pengadukan, partisi (ekstraksi dengan corong pisah) dan ekstraksi Soxhlet. Sementara metode ekstraksi modern, meliputi teknik baru dengan *ultrasound*, ekstraksi dengan gelombang mikro, ekstraksi cairan sub dan superkritis, dan ekstraksi pelarut yang dipercepat (Khoddami *et al.*, 2013). Setiap metode memiliki kelebihan dan kekurangan, tetapi tujuan utamanya adalah pencapaian ekstraksi dari senyawa yang diinginkan (ekstrak) dan menghindari modifikasi kimianya. Efisiensi ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis dan konsentrasi pelarut, rasio padat-pelarut, waktu, suhu, pH, dan lain-lain (Ćujić *et al.*, 2016).

Maserasi termasuk metode konvensional yang sering digunakan dalam ekstraksi senyawa bioaktif dan diketahui masih diterapkan hingga saat ini seperti pada penelitian yang dilakukan oleh (Popovici *et al.*, 2022). Maserasi merupakan teknik sederhana dengan cara merendam sampel dengan pelarut organik dengan waktu tertentu. Cairan pengekstraksi akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam

rongga sel yang berisi zat aktif sehingga zat aktif tersebut akan larut. Kelebihan metode maserasi dibandingkan yang lainnya antara lain lebih mudah, simpel, tidak membutuhkan biaya yang mahal, dan tidak membutuhkan perlakuan khusus (Galanakis, 2013). Pelarut yang biasa digunakan dalam ekstraksi maserasi ialah metanol, etanol, butanol, etil asetat, n-heksana, dan sebagainya (Ndip *et al.*, 2020; Nurcahyo *et al.*, 2022).

2.9. Resistensi Antibiotik

Resistensi antibiotik adalah keadaan ketika suatu obat kehilangan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara efektif. Bakteri menjadi resisten dan terus berkembang biak dengan adanya tingkat terapi antibiotik (Ramdhani *et al.*, 2021). Pada tahun 2017, WHO menerbitkan daftar bakteri yang membutuhkan antibiotik baru untuk mengatasinya secara mendesak dan mengelompokkannya berdasarkan prioritasnya sebagai kritis, tinggi, dan sedang pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Daftar patogen prioritas menurut WHO (Jubeh *et al.*, 2020).

2.10. *Chloramphenicol*

Chloramphenicol adalah jenis antibiotik spektrum luas yang awalnya berasal dari *Streptomyces venezuelae*, tetapi juga telah diproduksi secara sintesis. Pada tahun 1940an dikenalkan ke dalam praktik klinis untuk pengobatan infeksi yang disebabkan oleh organisme gram-positif dan gram-negatif. *Chloramphenicol* bersifat bakteriostatik, tetapi dapat menimbulkan aktivitas bakterisidal pada konsentrasi yang lebih tinggi, ia berdifusi melalui dinding sel bakteri dan berikatan dengan sub-unit ribosom bakteri. Pengikatan tersebut mengganggu aktivitas peptidil transferase dan mencegah transfer asam amino ke rantai peptida yang sedang tumbuh dan menghambat pembentukan ikatan peptida yang mengakibatkan terhambatnya sintesis protein bakteri (Svetlov *et al.*, 2019).

2.11. Bakteri *Staphylococcus aureus*

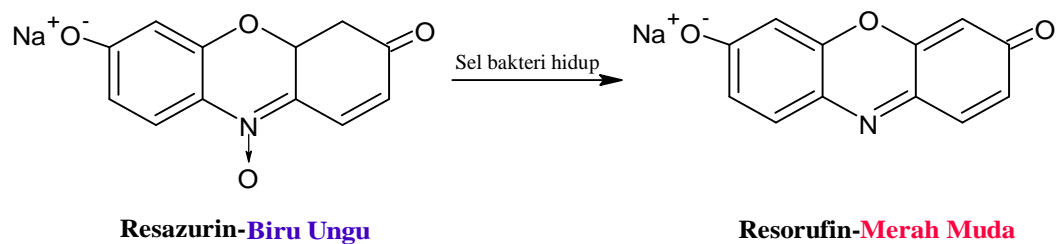
S. aureus merupakan salah satu bakteri patogen utama yang dapat menyebabkan banyak penyakit menular baik di rumah sakit maupun lingkungan masyarakat. Bakteri *S. aureus* termasuk dalam kelompok ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter*), kelompok bakteri terpenting yang terlibat dalam infeksi yang ditandai dengan resistensi multidrug (De Oliveira *et al.*, 2020). *S. aureus* menempati posisi khusus di antara spesies yang lain karena virulensinya yang relatif tinggi dan plastisitas yang tinggi sehingga memungkinkannya beradaptasi dengan berbagai kondisi lingkungan. Strain *S. aureus* telah mengembangkan mekanisme resistensi terhadap hampir semua obat antimikroba yang digunakan dalam pengobatan, seperti resistensi terhadap obat yang paling umum digunakan dalam pengobatan infeksi Gram-positif, yaitu beta-laktam, glikopeptida, dan oksazolidinon (Mlynarczyk *et al.*, 2022).

Bakteri ini merupakan jenis bakteri Gram-positif, memiliki diameter 0,8 μ m, tersusun dalam “untaian anggur” di bawah mikroskop, bersifat aerobik atau anaerobik, tumbuh optimal pada suhu 37°C, dan pada pH 7.4 (Gardete & Tomasz, 2014). Bakteri *S. aureus* tidak membentuk spora, nonmotil, dan katalase positif.

Bakteri tersebut berkembang biak (dengan pembelahan biner) dengan cepat pada suhu kamar menghasilkan racun yang menyebabkan beberapa penyakit ketika memasuki tubuh. Bakteri ini tidak membentuk spora atau flagela, tetapi memiliki kapsul, dapat menghasilkan pigmen kuning keemasan, dan menguraikan mannitol (González-Pérez *et al.*, 2019; Sato *et al.*, 2019).

2.12. Pengujian Antibakteri

Pengujian antibakteri merupakan tindakan untuk mengetahui kemampuan atau potensi dari suatu senyawa dalam memberikan efek untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri. Metode yang dapat digunakan untuk menguji bioaktivitas antibakteri suatu senyawa salah satunya adalah metode pengenceran mikro (*microdilution method*) yang telah terstandarisasi oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Metode pengenceran mikro merupakan metode kuantitatif yang digunakan untuk menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yang merupakan indikator penting dalam mengetahui potensi agen antimikroba dalam konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) di mana pertumbuhan bakteri dicegah di bawah kondisi pertumbuhan yang ditentukan. Metode mikrodilusi memiliki beberapa keunggulan dibandingkan metode lainnya, yakni tingkat akurasi yang tinggi, mudah dilakukan, cepat, dan hasil visualisasi yang lebih baik. Penentuan titik akhir pengujian menggunakan reagen pewarna resazurin. Resazurin berubah menjadi merah muda ketika direduksi oleh sel-sel organisme seperti bakteri. Perubahan warna resazurin dari ungu menjadi merah muda dicatat sebagai hasil negative, sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri dianggap sebagai hasil positif (Elshikh *et al.*, 2016). Sel bakteri aktif mereduksi resazurin non-fluoresen (biru) menjadi resorufin fluoresen (merah muda), dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Reduksi resazurin menjadi resorufin (Elshikh *et al.*, 2016).

2.13. Metode Pemisahan dan Pemurnian Kromatografi

Kromatografi adalah metode pemisahan suatu komponen senyawa dari campurannya. Prinsip kromatografi didasarkan pada partisi diferensial antara fase diam (padatan atau cairan yang didukung pada padatan) dan fase gerak (cair atau gas). Fase diam yang digunakan dari lapisan tipis adsorben, seperti silika gel, alumina, atau selulosa pada substrat inert.

2.14.1. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu metode yang paling berguna untuk mengikuti kemajuan reaksi kimia organik dan untuk menguji kemurnian senyawa organik dalam fitokimia dan bioteknologi. Kelebihan metode ini ialah mudah dalam preparasi sampel, sederhana, biaya relatif murah, volume pelarut yang digunakan sedikit, selektif dan sensitif, serta kromatogramnya dapat diamati secara visual sehingga metode ini masih banyak digunakan dalam penelitian (Saldan *et al.*, 2020; Setiawan *et al.*, 2022). Metode ini juga memanfaatkan perbedaan afinitas analit dengan fase gerak dan fase diam untuk mencapai pemisahan campuran kompleks molekul organik. Pelat KLT berupa lembaran kaca, logam atau plastik yang dilapisi dengan lapisan tipis adsorben padat. Sejumlah kecil campuran yang akan dianalisis ditotolkan di bagian bawah pelat dan pelat KLT ditempatkan pada wadah pelarut yang dalam sehingga hanya bagian paling bawah pelat yang berkontak langsung dengan eluen saat dielusi. Pelarut bermigrasi ke atas pelat (perkembangan menaik) dan komponen sampel dipisahkan. Pelat KLT dikeluarkan dari bilik dan pelarut dibiarkan menguap, *spot* noda yang terpisah dapat dideteksi dengan memvisualisasikan di bawah sinar UV 254 nm, 366 nm, maupun sinar fluoresens dengan menggunakan autoradiografi dan pengukuran radiasi dari senyawa berlabel radioaktif. Cara lain dapat dilakukan melalui pencampuran dengan beberapa reagen, misalnya reagen serium (IV) sulfat untuk mendeteksi senyawa organik secara umum, dan reagen *Dragendorff* untuk mendeteksi adanya gugus N tersier (nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺) (Astuti *et al.*, 2021; Setiawan *et al.*, 2022; Susilo & Suciati, 2016).

Perilaku senyawa dicirikan oleh kuantitas yang dikenal sebagai *retention factor* (Rf) dan dinyatakan dalam bentuk bilangan desimal. Rf dihitung dengan membagi jarak tempuh senyawa dari posisi semula dengan jarak tempuh pelarut dari posisi semula. Adsorben yang berbeda akan memberikan nilai yang berbeda untuk pelarut yang sama. Pengukuran nilai Rf berguna untuk membantu dalam mengidentifikasi senyawa yang ada pada sampel. Selain itu nilai Rf tidak selalu konstan untuk zat terlarut, adsorben, atau pelarut tertentu, namun bergantung pada banyak faktor, seperti kualitas fase diam, ketebalan lapisan, kelembapan, jarak pengembangan, dan suhu. Perhitungan nilai Rf dapat ditentukan sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh komponen}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut}}$$

2.14.2. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan metode yang dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dalam campuran. Fraksinasi zat terlarut terjadi akibat dari migrasi diferensial melalui tabung tertutup fase diam, dan analit dapat dipantau saat pemisahan sedang berlangsung. Fase gerak dalam kromatografi kolom adalah cairan, sedangkan fase diam dapat berupa padat atau cair yang didukung oleh padatan inert. Persiapan kromatografi kolom diawali dengan menyiapkan fase diam, seperti silika gel, resin berbasis dekstran (Sephadex LH-20), atau kolom C18 (oktadesil silika). Fase diam harus dihidrasi terlebih dahulu dalam fase gerak. Fase diam yang disiapkan kemudian dikemas ke dalam kolom (biasanya terbuat dari kaca), panjang dan diameternya ditentukan oleh jumlah sampel yang akan dimuat, mode pemisahan yang akan digunakan, dan tingkat resolusi yang diperlukan. Peningkatan resolusi biasanya menyesuaikan ukuran kolom yang lebih panjang dan lebih sempit. Kolom adsorpsi dapat berupa pengepakan kering atau basah. Teknik yang paling umum untuk pengepakan basah melibatkan pembuatan bubur adsorben dengan pelarut dan menuangkannya ke dalam kolom. Saat adsorben mengendap, kelebihan pelarut dikeringkan dan bubur tambahan ditambahkan. Jika pelarut pengemas berbeda dari pelarut elusi awal, kolom harus dicuci secara menyeluruh (diseimbangkan) dengan fase gerak awal. Fase gerak dapat menggunakan metanol,

etil asetat, sikloheksana, asetonitril, kloroform, atau yang lainnya menyesuaikan sifat kepolaran senyawa yang akan dipisahkan (Zhang *et al.*, 2018).

2.14. Karakterisasi Senyawa

Karakterisasi senyawa bertujuan untuk melihat komponen struktur secara mendalam dari senyawa yang terkandung di dalam ekstrak. Adapun instrumen karakterisasi yang akan digunakan pada penelitian ini, yaitu *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) dan *Fourier Transform Infra Red Spectrometry* (FT-IR).

2.15.1. *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS/MS)

Spektrometri massa merupakan metode analisis untuk mengidentifikasi senyawa yang tidak diketahui, senyawa yang diketahui, dan untuk menjelaskan strukturnya. Spektrometri massa kromatografi cair (LC-MS/MS) adalah teknik analisis yang sangat sensitif dan spesifik yang dapat secara tepat menentukan identitas dan konsentrasi suatu senyawa di dalam sampel, namun pemisahan metabolit bergantung pada kolom kromatografi yang digunakan, deteksi dibatasi oleh kemampuan ionisasi analit, dan elusidasi molekuler memiliki beberapa batasan yang melekat, seperti resolusi isomer (Farag *et al.*, 2012; Raletsena *et al.*, 2022). Prinsip dasar spektrometri massa dengan menghasilkan ion dari senyawa anorganik atau organik dengan metode yang sesuai, untuk memisahkan ion-ion dengan rasio massa-muatannya (m/z) dan mendeteksinya secara kualitatif dan kuantitatif serta kelimpahannya. Analit dapat terionisasi secara termal oleh medan listrik atau dengan menumbuk elektron, ion, atau foton yang energetik.

Spektrum massa adalah representasi dua dimensi berdasarkan dari intensitas sinyal (ordinat) dan m/z (absis). Intensitas puncak (sinyal) secara langsung mencerminkan kelimpahan spesies ionik dari rasio m/z masing-masing yang telah dibuat dari analit dalam sumber ion. Kombinasi spektrometri massa dengan kromatografi cair digunakan untuk menganalisis kompleks metabolit. LC-MS/MS menggunakan *electrospray ionization* (ESI) mampu mendeteksi senyawa non volatil, polar, dan labil secara termal serta menyediakan sarana untuk mendeteksi menu obat dan

metabolit yang luas tanpa perlu persiapan sampel yang panjang. Spektrometer massa yang paling umum digunakan untuk analisis komponen senyawa obat yaitu *Quadrupole Time of Flight* (Q-TOF). Ada dua mode akuisisi data utama. Akuisisi independen data dapat diperoleh dengan cepat, tetapi beberapa ion molekuler dan ion fragmen dengan waktu retensi yang sama dapat mengganggu satu sama lain. Akuisisi yang bergantung pada data dapat digunakan untuk mendeteksi ion secara selektif tanpa interferensi, tetapi saluran akuisisinya biasanya terbatas. Kombinasi dari dua mode akuisisi di atas merupakan metode yang dioptimalkan untuk akuisisi data (Chen *et al.*, 2021).

2.15.2. Fourier Transform Infra Red Spectrophotometry (FT-IR)

Fourier Transform Infra Red (FT-IR) adalah salah satu metode analisis yang paling penting dalam penentuan struktur senyawa. Jenis analisis ini dapat digunakan untuk mengkarakterisasi sampel dalam bentuk cairan, larutan, pasta, bubuk, film, serat, dan gas. Analisis ini juga memungkinkan untuk menganalisis material pada permukaan substrat. Dibandingkan dengan jenis karakterisasi lainnya, FT-IR sangat populer. Karakterisasi ini cukup cepat, akurat, dan relatif sensitif. Spektrum IR mencakup tiga daerah bilangan gelombang di antaranya spektrum inframerah jauh ($<400\text{cm}^{-1}$), inframerah tengah ($400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$), dan inframerah dekat ($4000\text{-}13000\text{ cm}^{-1}$). Spektrum inframerah-tengah paling sering digunakan dalam analisis sampel, tetapi spektrum inframerah-jauh dan inframerah-dekat juga membantu memberikan informasi tentang sampel yang dianalisis (Nandiyanto *et al.*, 2019).

Gugus metil C-H *stretching* alkana asimetris dan simetris diketahui mengalami getaran atau vibrasi pada bilangan gelombang sekitar 2970-2950 dan 2880-2860 cm^{-1} . Hal ini mengindikasikan suatu senyawa memiliki ikatan C rantai panjang bila grafik menunjukkan serapan yang sangat kuat. Cara tersebut mengindikasikan dua buah ikatan C-H saling memanjang tidak bersamaan, sehingga mempunyai momen dipol listrik dan aktif dalam spektrum inframerah. Hal yang mendukung kesimpulan- tersebut, dapat ditinjau penyerapan yang disebabkan oleh gugus alkil. Adanya gugus alkil dapat dilihat dengan munculnya pita karakteristik C-H bending pada daerah bilangan gelombang 1500–1300 cm^{-1} . Gugus hidroksil, ikatan H pada

OH stretching berada pada bilangan gelombang 3570-3200 cm^{-1} . Alkil tersubstitusi eter yakni ikatan C-O stretching berada pada bilangan gelombang 1150-1050 cm^{-1} . Gugus amino tersier pada siklik aromatik dan alifatik memungkinkan terdistribusi pada bilangan gelombang 1360-1310 cm^{-1} dan 1210-1150 cm^{-1} . Gugus karbonil C=O berada pada bilangan gelombang 2100-1300 cm^{-1} . Bentuk suatu struktur senyawa menjadi penentu terjadinya interaksi infra merah dengan molekul-molekulnya. Molekul tiap-tiap gugus akan mempunyai vibrasi yang berbeda-beda apabila vibrasi gugus molekul sesuai dengan frekuensi radiasi IR, maka akan terjadi interaksi medan listrik yang menyebabkan perubahan-perubahan vibrasi yang menandakan terjadinya absorpsi radiasi sinar IR oleh gugus molekul. Perubahan energi vibrasi molekul pasti akan diikuti perubahan amplitudo vibrasi molekul yang dikenal sebagai sinyal radiasi IR (Nandiyanto *et al.*, 2019).

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilakukan sejak bulan Maret hingga Agustus 2022 di Unit Pelaksana Teknis-Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini, yaitu alat pelindung diri (jas laboratorium; sarung tangan; dan masker), gelas piala, erlenmeyer, tabung reaksi, pipet tetes, gelas ukur, kaca preparat, *coverslip*, cawan petri, blender, botol semprot, kapas, kasa, botol *chamber*, plastik *wrap*, plastik tahan panas, tisu, pinset, jarum ose, labu evap, bunsen, korek api, keranjang, *magnetic stirrer*, *spin bar*, batang pengaduk, spatula, mikropipet 100 μL dan 1000 μL , tip mikropipet, wadah tip, spidol, lidi, *autoclave* Tomy SX-700, lampu UV λ 254 nm, *rotary evaporator* Buchii/R210, lampu UV Kohler/SN402006, sentrifugator, neraca analitik Wigen Houser, laminar air flow ESCO/AVC4A1, inkubator Memmert- Germany/INC-02, *hospitex diagnostics*, mikroskop Axio Zeiss A1, dan drying oven Jisico.

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian, yaitu limbah kulit udang, koloid kitin, agar-agar *plain*, sampel sedimen mangrove, larutan NaOH 3,5%, larutan HCl 1,25 N, air laut buatan (27 g NaCl, 5.6 g $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 1.5 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 g KNO_3 , 0.07 g K_2HPO_4 , 6.6 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, dan 0.04 g NaHCO_3), akuades, metanol, metanol *pro analysis*, etil asetat, n-heksana, kloroform, eter, silika gel, alkohol 70%, *Tryptic Soy Broth*, resazurin 0,02%, pereaksi serium (IV) sulfat, pereaksi *Dragendorff*, *ciprofloxacin* dan *chloramphenicol*.

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Sampling Material

Sampel sedimen mangrove diambil secara acak pada 3 titik di kawasan hutan mangrove Sriminosari, Lampung Timur. Penentuan titik koordinat menggunakan *Global Positioning System* (GPS) berbasis android. Pengambilan sampel sedimen mangrove menggunakan teknik *purposive sampling*, yakni diambil dengan sendok steril pada kedalaman 10 cm dan dimasukkan ke dalam plastik klip dan diberi label. Sampel disimpan di dalam *cool box* suhu 4°C (Li *et al.*, 2009).

3.3.2. Isolasi Actinomycetes Sedimen Mangrove

Sampel sedimen mangrove sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL air laut buatan steril (10^{-1}) dan dipipet sebanyak 1 mL sebagai pengenceran bertingkat hingga 10^{-5} (Lailatussyifa *et al.*, 2020). Sebanyak 100 μ L dari pengenceran 10^{-2} - 10^{-4} ditebarkan pada cawan petri yang diberi media koloid kitin agar (1% koloid kitin dan 2% agar dalam air laut buatan steril) yang ditambahkan *ciprofloxacin* 50 μ g/mL dan diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari. Isolat yang telah tumbuh kemudian diamati secara makroskopis dan dipisahkan hingga mendapatkan isolat tunggal (Setiawan *et al.*, 2022).

3.3.3. Identifikasi Mikroskopis Actinomycetes Sedimen Mangrove

Isolat tunggal yang didapat diidentifikasi secara mikroskopis menggunakan metode *coverslip slide culture* merujuk dari Setiawan *et al.* (2021) dengan beberapa modifikasi. *Coverslip* ukuran 22x22 mm dimasukkan pada sudut 45° ditengah media koloid kitin agar, koloni mikroba digoreskan berdekatan dengan *coverslip* dan diinkubasi selama 4 hingga 7 hari. *Coverslip* diambil secara perlahan menggunakan pinset steril dan diletakkan pada kaca objek yang bersih, kemudian diamati di bawah mikroskop Axio Zeiss A1 dengan perbesaran 400x.

3.3.4. Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap *S. aureus*

Isolat actinomycetes yang telah diidentifikasi secara makro dan mikro, selanjutnya dilakukan preparasi untuk skrining aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*. Seluruh isolat dikultivasi terlebih dahulu untuk mendapatkan ekstrak kasar (*crude*) menggunakan metode *solid state fermentation* yang merujuk metode dari Setiawan *et al.* (2021). Isolat actinomycetes ditumbuhkan pada media inokulum cair yang mengandung koloid kitin 1% dalam air laut buatan steril sebanyak 20 mL dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Inokulum actinomycetes yang telah tumbuh dipindahkan ke dalam erlenmeyer 500 mL yang berisi 50 g kulit udang steril dan kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari. Biomassa actinomycetes dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat (EtOAc) selama 1 hari. Filtrat disaring dan dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator*. Ekstrak kasar dari masing-masing isolat ditimbang bobotnya. Sampel sebanyak 2 mg/mL dibuat sebagai larutan stok pada skrining aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.

Isolat bakteri *S. aureus* merupakan deposit yang tersedia di UPT-LTSIT Universitas Lampung yang berasal dari Rumah Sakit Abdul Muluk, Bandar Lampung. Bakteri yang digunakan terbukti resisten terhadap beberapa antibiotik, seperti *clindamycin*, *ciprofloxacin*, *erythromycin*, *lincomycin*, dan *amoxicillin* (Lutfiah *et al.*, 2021). Skrining antibakteri mengacu pada *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) menggunakan *microtiter plate 96-wells*. Suspensi bakteri dibuat dengan menumbuhkan biakan bakteri ke dalam vial berisi 5 mL *Tryptic Soy Broth* (TSB) yang disesuaikan dengan kekeruhan standar 0,5 McFarland ($OD_{630} = 0,08-0,1$) dan diencerkan 1:100 (10^6 CFU/mL). Ekstrak kasar (*crude*) sampel dibuat dengan konsentrasi stok 2 mg/mL, *Chloramphenicol* 2 mg/mL digunakan sebagai kontrol positif, MeOH 12,5% digunakan sebagai kontrol negatif, media TSB digunakan sebagai kontrol pertumbuhan (blanko), dan sumur media tanpa suspensi bakteri sebagai kontrol steril. Setiap sumur diisi dengan 145 μ L media TSB, 50 μ L ekstrak sampel, dan 25 μ L suspensi bakteri. *Microtiter plate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam dan setelah diinkubasi diukur absorbansinya menggunakan *Hospitex*. Penambahan resazurin 0,02% sebanyak 30 μ L dan diinkubasi selama 2 hingga 4 jam untuk diamati perubahan warnanya (Elshikh *et al.*, 2016).

3.3.5. Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kasar (*crude*) seluruh isolat actinomycetes yang telah diskriming, selanjutnya dilakukan pemisahan komponen senyawa melalui kromatografi lapis tipis menggunakan pelat silika gel F254. Ekstrak kasar (*crude*) ditotolkan sedikit pada pelat dan dielusi dalam kondisi jenuh menggunakan beberapa eluen dan dengan berbagai perbandingan, seperti etil asetat 100%, n-heksana 100%, dan n-Heksana: etil asetat (7:3). Pelat divisualisasi dibawah sinar UV 254 nm dan kemudian direaksikan dengan beberapa reagen, di antaranya serium (IV) sulfat dan reagen spesifik *Dragendorff* (larutan 1: 1,7 g bismut nitrat dengan 80 mL akuades dan 20 mL asam asetat glasial; larutan 2: larutan KI (50% b/v, 100 mL) dengan asam asetat glasial) (Setiawan *et al.*, 2022).

3.3.6. Kultivasi dan Ekstraksi (*Scale Up*)

Isolat yang telah diketahui memiliki aktivitas antibakteri paling besar (isolat unggul) dapat dilakukan kultivasi dalam skala besar. Metode kultivasi merujuk dari Setiawan *et al.* (2021) dengan beberapa modifikasi. Isolat actinomycetes ditumbuhkan media inokulum cair yang masing-masing mengandung koloid kitin 1% dalam air laut buatan steril sebanyak 50 mL dan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Inokulum actinomycetes yang telah berumur 7 hari dipindahkan ke dalam botol gelap berukuran 2,5 L yang berisi 200 g substrat kulit udang yang telah steril dan dibuat sebanyak 5 kali pengulangan, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari. Biomassa actinomycetes yang telah tumbuh pasca inkubasi 14 hari dimaserasi menggunakan pelarut etil asetat (EtOAc) selama 1 hari. Filtrat disaring dan dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator*. Ekstrak kasar (*crude*) dari isolat unggul yang telah pekat kemudian ditimbang bobotnya.

3.3.7. Fraksinasi Kromatografi Kolom

Ekstrak kasar (*crude*) isolat unggul yang telah didapatkan dari hasil kultivasi skala besar dilakukan pemisahan komponen senyawanya dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan beberapa jenis dan perbandingan eluen untuk menentukan jenis pelarut dan rasio yang sesuai pada fraksinasi kromatografi kolom. Fraksinasi melalui kromatografi kolom terbuka menggunakan silika gel (SiO₂) sebagai fase

diam yang dihidrasi menggunakan pelarut n-heksana. Elusi diawali dengan pelarut n-heksana 100%, n-heksana: etil asetat (9:1), n-Heksana: etil asetat (7:3), dan diakhiri dengan metanol. Hasil fraksinasi kemudian di KLT menggunakan eluen yang sesuai. Fraksi yang memiliki nilai R_f yang sama dapat digabungkan. Selanjutnya dari masing-masing fraksi tersebut diuji aktivitas antibakterinya terhadap *S. aureus* untuk mengetahui fraksi yang aktif. Fraksi dengan aktivitas tertinggi dimurnikan hingga muncul satu *spot* pada KLT yang dielusi menggunakan beberapa variasi eluen. Senyawa murni yang telah diperoleh dapat dilanjutkan ke tahap karakterisasi senyawa (Sudding *et al.*, 2021).

3.3.8. Karakterisasi Senyawa

Sampel yang diperkirakan sudah murni dengan ditandai munculnya satu *spot* pada KLT (tidak berekor), selanjutnya dapat dikarakterisasi menggunakan instrumen *Liquid Chromatography Mass Spectrometer* (LC-MS/MS) UPLC/Xevo G2-S Qtof di Badan Reserse Kriminal Polri Pusat Laboratorium Forensik Bogor dan *Fourier Transform Infra Red Spectrometer* (FT-IR) Cary 360 di UPT-LTSIT Universitas Lampung.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Adapun simpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Telah didapatkan 7 isolat actinomycetes dari sedimen mangrove Sriminosari, Lampung Timur yang terindikasi secara mikroskopis termasuk ke dalam genus *Streptomyces* dan *Planomonospora*.
2. Hasil skrining antibakteri melalui *microdilution* menunjukkan ekstrak kasar (*crude*) isolat ISM 7 dan sampel ISM7K1F3 memiliki daya hambat paling besar terhadap *S. aureus* pada konsentrasi 454 µg/mL.
3. Hasil karakterisasi LC-MS/MS sampel ISM7K1F3 menunjukkan bahwa pada waktu retensi 17,38 menit dengan *base peak* 401.3414 m/z memiliki perkiraan formula molekul C₂₂H₄₅N₂O₄ yang terindikasi senyawa golongan alkaloid dengan kerangka dasar morfolin, sedangkan hasil karakterisasi FT-IR menunjukkan adanya gugus C-O (1051,1 cm⁻¹), gugus C-N (1371,7 cm⁻¹), gugus C-H *bending* alkana (1461,1 cm⁻¹), gugus C=O (1714,6 cm⁻¹), gugus C-H *stretching* alkana (2862,6 cm⁻¹ dan 2929,7 cm⁻¹), dan gugus O-H (3414,2 cm⁻¹).

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat dilanjutkan ke tahap pemurnian senyawa alkaloid, karakterisasi sampel ISM7K1F3 menggunakan instrumen NMR, serta analisis filogenetik isolat strain ISM 7.

DAFTAR PUSTAKA

- Adame, M. F., Brown, C. J., Bejarano, M., Herrera-Silveira, J. A., Ezcurra, P., Kauffman, J. B., & Birdsey, R. (2018). The undervalued contribution of mangrove protection in Mexico to carbon emission targets. *Conservation Letters*, *11*(4), 1–23.
- Alabaraoye, E., Achilonu, M., & Hester, R. (2018). Biopolymer (Chitin) from Various Marine Seashell Wastes: Isolation and Characterization. *Journal of Polymers and the Environment*, *26*(6), 2207–2218.
- Anandan, R., Dharumadurai, D., & Manogaran, G. P. (2016). An Introduction to Actinobacteria. *Intech*, *i*(tourism), 13.
- Arumugam, M., Mitra, A., Pramanik, A., Saha, M., Gachhui, R., & Mukherjee, J. (2011). *Streptomyces sundarbansensis* sp. nov., an actinomycete that produces 2-allyloxyphenol. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *61*, 2664–2669.
- Astuti, P., Pratoko, D. K., Rollando, R., Nugroho, G. W., Wahyuono, S., Hertiani, T., & Nurrochmad, A. (2021). Bioactivities of A Major Compound from *Arthrinium rasikravindrae* An Endophytic Fungus of *Coleus amboinicus* Lour . *Journal Pharm Science*, *46*(1), 23–30.
- Avelelas, F., Horta, A., Pinto, L. F. V., Marques, S. C., Nunes, P. M., Pedrosa, R., & Leandro, S. M. (2019). Antifungal and antioxidant properties of chitosan polymers obtained from nontraditional *Polybius henslowii* sources. *Marine Drugs*, *17*(4), 1–15.
- Azman, A., Othman, I., & Chan, C. F. K. (2016). Antibacterial , Anticancer and Neuroprotective Activities of Rare Actinobacteria from Mangrove Forest Soils. *Indian Journal of Microbiology*.

- Azman, A. S., Othman, I., Velu, S. S., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015). Mangrove rare actinobacteria: Taxonomy, natural compound, and discovery of bioactivity. *Frontiers in Microbiology*, 6(AUG), 1–15.
- Barbier, E. B. (2016). The protective service of mangrove ecosystems: A review of valuation methods. *Marine Pollution Bulletin*, 109(2), 676–681.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J. P., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., & van Wezel, G. P. (2016). Correction for Barka et al., Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(4), 1–43.
- Bissett, A., Burke, C., Cook, P. L. M., & Bowman, J. P. (2007). Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. *Environmental Microbiology*, 9(1), 46–60.
- Bryan-Wilson, J. (2016). No time to wait. *Artforum International*, 54(10), 113–114.
- Cai, J., Chen, C., Tan, Y., Chen, W., Luo, X., Luo, L., Yang, B., Liu, Y., & Zhou, X. (2021). Bioactive polyketide and diketopiperazine derivatives from the mangrove-sediment-derived fungus *Aspergillus* sp. SCSIO41407. *Molecules*, 26(16), 4–13.
- Chaouch, F. C., Bouznada, K., Bouras, N., Meklat, A., Tata, S., Mokrane, S., Florence, M., Spröer, C., Klenk, H., & Sabaou, N. (2016). *Planomonospora*, *Saccharothrix* And *Actinophytocola* Genera in Saharan Soils of Algeria : Isolation , Taxonomic Identification And Antagonistic Properties. 505–510.
- Chen, C., Li, D., Yano, H., & Abe, K. (2019). Insect Cuticle-Mimetic Hydrogels with High Mechanical Properties Achieved via the Combination of Chitin Nanofiber and Gelatin [Research-article]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(19), 5571–5578.
- Chen, Y., Bi, J., Xie, M., Zhang, H., Shi, Z., Guo, H., Yin, H., Zhang, J., Xin, G., & Song, H. (2021). Key Laboratory for Identification and Quality Evaluation of Traditional Chinese State Key Laboratory of Natural Medicines , China Pharmaceutical University ,. *Journal of Chromatography A*, 462307.

- Ćujić, N., Šavikin, K., Janković, T., Pljevljakušić, D., Zdunić, G., & Ibrić, S. (2016). Optimization of polyphenols extraction from dried chokeberry using maceration as traditional technique. *Food Chemistry*, *194*, 135–142.
- De Oliveira, D. M. P., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, *33*(3).
- Debbab, A., Aly, A. H., & Proksch, P. (2013). Mangrove derived fungal endophytes - A chemical and biological perception. *Fungal Diversity*, *61*(1), 1–27.
- Elshikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R., & Banat, I. M. (2016). Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnology Letters*, *38*(6), 1015–1019.
- Farag, M. A., Porzel, A., & Wessjohann, L. A. (2012). Phytochemistry Comparative metabolite profiling and fingerprinting of medicinal licorice roots using a multiplex approach of GC – MS , LC – MS and 1D NMR techniques. *Phytochemistry*, *76*, 60–72.
- Galanakis, C. M. (2013). Emerging technologies for the production of nutraceuticals from agricultural by-products: A viewpoint of opportunities and challenges. *Food and Bioproducts Processing*, *91*(4), 575–579.
- Gardete, S., & Tomasz, A. (2014). Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation*, *124*(7), 2836–2840.
- Giri, C. (2021). Recent advancement in mangrove forests mapping and monitoring of the world using earth observation satellite data. *Remote Sensing*, *13*(4), 1–6.
- Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) Report*. (2017).
- Gokulan, K., Khare, S., & Cerniglia, C. (2014). Metabolic Pathways: Production of Secondary Metabolites of Bacteria. *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*, *2*(May), 561–569.

- Golinska, P., Wypij, M., Agarkar, G., Rathod, D., Dahm, H., & Rai, M. (2015). Endophytic actinobacteria of medicinal plants: Diversity and bioactivity. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 108(2), 267–289.
- González-Pérez, C. J., Tanori-Cordova, J., Aispuro-Hernández, E., Vargas-Arispuro, I., & Martínez-Téllez, M. A. (2019). Morphometric parameters of foodborne related-pathogens estimated by transmission electron microscopy and their relation to optical density and colony forming units. *Journal of Microbiological Methods*, 165(August), 105691.
- Guo, W., Kong, X., Zhu, T., Gu, Q., & Li, D. (2015). Penipyrrols A-B and peniamidones A-D from the mangrove derived *Penicillium solitum* GWQ-143. *Archives of Pharmacal Research*, 38(8), 1449–1454.
- Hamed, I., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science & Technology*, 48, 40–50.
- He, F., Li, X., Yu, J. H., Zhang, X., Nong, X., Chen, G., Zhu, K., Wang, Y. Y., Bao, J., & Zhang, H. (2019). Secondary metabolites from the mangrove sediment-derived fungus *Penicillium pinophilum* SCAU037. *Fitoterapia*, 136(April), 104177.
- Herison, A., Darmawan, A., Romdania, Y., & Puspaningrum, C. (2021). Analysis of Suitability of the Mangrove Ecotourism Area Pandan Alas Sriminosari Village Labuhan Maringgai East Lampung. *Advances in Engineering Research*, 202(Icsb 2019), 64–68.
- Heul, H. U. Van der, Bilyk, B. L., McDowall, K. J., Seipke, R. F., & Wezel, G. P. Van. (2018). Natural Product Reports Regulation of antibiotic production in Actinobacteria: new perspectives from the post-genomic era. *Natural Product Reports*, 35, 575–604.
- Hu, H., Lin, H., Xie, Q., Li, L., & Xie, X. (2012). *Streptomyces qinglanensis* sp. nov., isolated from mangrove sediment. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 62, 596–600.
- Jubeh, B., Breijyeh, Z., & Karaman, R. (2020). Resistance of gram-positive bacteria to current antibacterial agents and overcoming approaches. *Molecules*, 25(12).

- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, *18*(2), 2328–2375.
- Kusmana, C. (2014). *Distribution and Current Status of Mangrove Forest in Indonesia*. Springer.
- Lacombe-Harvey, M. È., Brzezinski, R., & Beaulieu, C. (2018). Chitinolytic functions in actinobacteria: ecology, enzymes, and evolution. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *102*(17), 7219–7230.
- Lailatussyifa, A., Widyorini, N., & Jati, O. E. (2020). Total Analysis of *Vibrio* sp. in Sediment with Different Mangrove Densities at Ujung Piring Beach, Jepara. *Pasir Laut*, *4*(1), 16–21.
- Law, J. W., Ser, H., Mutalib, N. A., Saokaew, S., Duangjai, A., Khan, T. M., Chan, K., & Goh, B. (2019). nov ., a novel mangrove soil actinobacterium from East Malaysia with antioxidative potential. *Scientific Reports*, *January*, 1–18.
- Li, C. H., Zhou, H. W., Wong, Y. S., & Tam, N. F. Y. (2009). Vertical distribution and anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in mangrove sediments in Hong Kong, South China. *Science of the Total Environment*, *407*(21), 5772–5779.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. (2016). Morphological Identification of Actinobacteria. *Intech, i(tourism)*, 13.
- Lutfiah, R., Juliasih, N. L. G. R., Hendri, J., & Setiawan, A. (2021). Screening Extract EtOAc Sponge Derived Fungi Against Clinical *Staphylococcus aureus* to Obtain Sustainable Natural Product. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Ma, G. Q., Xia, Z. F., Zhang, Y., Wan, C. X., Luo, X. X., & Zhang, L. L. (2016). *Streptomyces litoralis* sp. Nov., isolated from a salt water beach. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, *66*(12), 5051–5055.
- Mangamuri, U., Muvva, V., Poda, S., Naragani, K., Munaganti, R. K., Chitturi, B., & Yenamandra, V. (2016). Bioactive metabolites produced by *Streptomyces Cheonanensis* VUK-A from *Coringa* mangrove sediments: isolation , structure elucidation and bioactivity. *3 Biotech*, *6*, 63.

- Messaoudi, O., Wink, J., & Bendahou, M. (2020). Diversity of actinobacteria isolated from date palms rhizosphere and saline environments: Isolation, identification and biological activity evaluation. *Microorganisms*, 8(12), 1–19.
- Meyers, P. R., Goodwin, C. M., Bennett, J. A., Aken, B. L., Price, C. E., & Rooyen, J. M. Van. (2004). *Streptomyces africanus* sp. nov., a novel streptomycete with blue aerial mycelium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 54, 1531–1535.
- Mlynarczyk-Bonikowska, B., Kowalewski, C., Krolak-Ulinska, A., & Marusza, W. (2022). Molecular Mechanisms of Drug Resistance in *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15).
- Nandiyanto, A. B. D., Oktiani, R., & Ragadhita, R. (2019). How to read and interpret ftir spectroscopy of organic material. *Indonesian Journal of Science and Technology*, 4(1), 97–118.
- Ndip, P., Bate, N., Elizabeth, A., Dohjinga, K., Borakaeyabe, S., Kukwah, A., & Ngemenya, M. N. (2020). In vitro activity against multi-drug resistant bacteria and cytotoxicity of lichens collected from Mount Cameroon. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 614–619.
- Nurbaya, S. (2020). *The State of Indonesia's Forests 2020*. Ministry of Environment and Forestry, Republic of Indonesia.
- Nurchahyo, H., Sumiwi, S. A., Halimah, E., & Wilar, G. (2022). Secondary metabolite determination from Brebes shallot's ethanol extract and its ethyl acetate fraction " *Allium ascalonicum*. *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*, 12(1), 70–73.
- O'Callaghan, R. J. (2018). The pathogenesis of *Staphylococcus aureus* eye infections. *Pathogens*, 7(1), 1–22.
- Ooi, C. K., Rasit, N., & Abdullah, W. R. W. (2021). Optimization of Protease from *Aspergillus Niger* under Solid-State Fermentation Utilizing Shrimp Shell Substrate. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(6), 14809–14824.

- Popovici, V., Bucur, L., Gîrd, C. E., Popescu, A., Matei, E., Cozaru, G. C., Schroder, V., Ozon, E. A., Fita, A. C., Lupuliasa, D., Aschie, M., Caraiane, A., Botnarcu, M., & Badea, V. (2022). Phenolic Secondary Metabolites and Antiradical and Antibacterial Activities of Different Extracts of *Usnea barbata* (L.) Weber ex F. H. Wigg from Călimani Mountains, Romania. *Pharmaceuticals*, *15*, 829.
- Ramdhani, D., Kusuma, S. A. F., Sedian, D., Bima, A. P. H., & Khumairoh, I. (2021). Comparative study of cefixime and tetracycline as an evaluation policy driven by the antibiotic resistance crisis in Indonesia. *Scientific Reports*, *11*(1), 1–5.
- Raletsena, M. V., Mdlalose, S., Bodede, O. S., Assres, H. A., Woldesemayat, A. A., & Modise, D. M. (2022). and LC-MS Based Metabolomics Analysis of Potato (*Solanum tuberosum* L.) Cultivars Irrigated with Fly Ash Treated Acid Mine Drainage. *Molecules*, *27*, 1187.
- Risandiansyah, R., & Yahya, A. (2022). Antibiotic Activity of Actinomycetes Isolated from Young *Tectona Grandis* (L.) Wood and Pith. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *12*(6), 8174–8183.
- Romañach, S. S., DeAngelis, D. L., Koh, H. L., Li, Y., Teh, S. Y., Raja Barizan, R. S., & Zhai, L. (2018). Conservation and restoration of mangroves: Global status, perspectives, and prognosis. *Ocean and Coastal Management*, *154*(February 2017), 72–82.
- Ryu, M., Hwang, S., Kim, S., Yang, I., Oh, D., & Nam, S. (2019). Meroindenon and Merochlorins E and F, Antibacterial Meroterpenoids from a Marine-Derived Sediment Bacterium of the Genus *Streptomyces*. *Organic Letters*, *21*, 5779–5783.
- Sadh, P. K., Duhan, S., & Duhan, J. S. (2018). Agro - industrial wastes and their utilization using solid state fermentation: a review. *Bioresources and Bioprocessing*, 1–15.
- Sajid, I., Shaaban, K. A., & Hasnain, S. (2011). Antitumour compounds from a saline soil isolate, *Streptomyces griseoincarnatus* CTF15. *Natural Product Research*, *25*(5), 37–41.

- Saldan, M., Valenzuela, S. A., Moor, S. R., Metola, P., & Anslyn, E. V. (2020). K - 5 Thin-Layer Chromatography: Three-Dimensional Analysis of Pigments from Plant Materials Using an Interlocking Building-Block Photography Box. *Journal of Chemical Education*.
- Sanad, S. M. H., Mekky, A. E. M., & El-Idreesy, T. T. (2022). Potential bacterial biofilm, MRSA, and DHFR inhibitors based on new morpholine-linked chromene-thiazole hybrids: One-pot synthesis and in silico study. *Journal of Molecular Structure*, 1248, 131476.
- Santos, Vanessa P., Marques, N. S. S., Maia, P. C. S. V., de Lima, M. A. B., Franco, L. de O., & de Campos-Takaki, G. M. (2020). Seafood waste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 1–17.
- Santos, Vanessa Pimentel, Maia, P., Alencar, N. de S., Farias, L., Andrade, R. F. S., Souza, D., Ribaux, D. R., Franco, L. de O., & Campos-Takaki, G. M. (2019). Recovery of chitin and chitosan from shrimp waste with microwave technique and versatile application. *Arquivos Do Instituto Biológico*, 86, 1–7.
- Sato, A., Yamaguchi, T., Hamada, M., Ono, D., Sonoda, S., Oshiro, T., Nagashima, M., Kato, K., Okazumi, S., Katoh, R., Ishii, Y., & Tateda, K. (2019). Morphological and biological characteristics of staphylococcus aureus biofilm formed in the presence of plasma. *Microbial Drug Resistance*, 25(5), 668–676.
- Schneider, K., Nicholson, G., Ströbele, M., Baur, S., Niehaus, J., Fiedler, H. P., & Süssmuth, R. D. (2006). The structures of fluostatins C, D and E, novel members of the fluostatin family. *Journal of Antibiotics*, 59(2), 105–109.
- Setiawan, A., Setiawan, F., Juliasih, N. L. G. R., Widyastuti, W., Laila, A., Setiawan, W. A., Djailani, F. M., Mulyono, M., Hendri, J., & Arai, M. (2022). Fungicide Activity of Culture Extract from *Kocuria palustris* 19C38A1 against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Fungi*, 8(3).
- Setiawan, A., Widyastuti, W., Irawan, A., Wijaya, O. S., Laila, A., Setiawan, W. A., Luh, N., Ratna, G., Nonaka, K., & Arai, M. (2021). Solid State Fermentation of Shrimp Shell Waste Using *Pseudonocardia carboxydvorans* 18A13O1 to Produce Bioactive Metabolites. *Fermentation*, 7, 1–10.
- Shaala, L. A., Youssef, D. T. A., Alzughairi, T. A., & Elhady, S. S. (2020). Antimicrobial Chlorinated 3-Phenylpropanoic Acid Derivatives from the Red Sea Marine Actinomycete. *Marine Drugs*, 18, 450.

- Shankar, Pr. (2016). Book review: Tackling drug-resistant infections globally. *Archives of Pharmacy Practice*, 7(3), 110.
- Sharma, S., Fulke, A. B., & Chaubey, A. (2019). *Bioprospection of marine actinomycetes : recent advances , challenges and future perspectives*. 38(6), 1–17.
- Sharqawy, M. H., Lienhard V, J. H., & Zubair, S. M. (2010). Thermophysical properties of seawater: A review of existing correlations and data. *Desalination and Water Treatment*, 16(1–3), 354–380.
- Simões, M. F., Antunes, A., Ottoni, C. A., Amini, M. S., Alam, I., Alzubaidy, H., Mokhtar, N. A., Archer, J. A. C., & Bajic, V. B. (2015). Soil and Rhizosphere Associated Fungi in Gray Mangroves (*Avicennia marina*) from the Red Sea - A Metagenomic Approach. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 13(5), 310–320.
- Singhania, R. R., Patel, A. K., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*, 44, 13–18.
- Soccol, C. R., Scopel, E., Alberto, L., Letti, J., Karp, S. G., Woiciechowski, A. L., Porto, L., & Vandenberghe, D. S. (2017). Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Biotechnology Research and Innovation*, 1, 52–71.
- Solntsev, K. M., Schramm, S., Kremb, S., Gunsalus, K. C., & Amin, S. A. (2019). Isolation of biologically active compounds from mangrove sediments. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 411(25), 6521–6529.
- Subramani, R., & Sipkema, D. (2019). Marine rare actinomycetes: A promising source of structurally diverse and unique novel natural products. In *Marine Drugs* (Vol. 17, Issue 5).
- Sudding, Salempa, P., & Nurhikmah. (2021). Isolation and Identification of Ethyl Acetate Extract Secondary Metabolite Compound of Kayu Jawa Bark (*L. Coromandelica*). *Journal of Physics: Conference Series*, 1899(1).
- Sugiyanti, D., Darmadji, P., Anggrahini, S., Anwar, C., & Santoso, U. (2018). Preparation and characterization of chitosan from Indonesian Tambak Lorok shrimp shell waste and crab shell waste. *Pakistan Journal of Nutrition*, 17(9), 446–453.

- Suresh, P. V, Sachindra, N. M., & Bhaskar, N. (2011). Solid state fermentation production of chitin deacetylase by *Colletotrichum lindemuthianum* ATCC 56676 using different substrates. *Journal Food Science and Technology*, 48(June), 349–356.
- Susilo, & Suciati, R. (2016). Studies of Morphological and Secondary Metabolites Variaty of Mosses (Bryophyta) in Cibodas, West Java. *International Journal of Advanced Research (IJAR)*, 4(12), 1397–1402.
- Svetlov, M. S., Plessa, E., Chen, C. W., Bougas, A., Krokidis, M. G., Dinos, G. P., & Polikanov, Y. S. (2019). High-resolution crystal structures of ribosome-bound chloramphenicol and erythromycin provide the ultimate basis for their competition. *Rna*, 25(5), 600–606.
- Tan, L. T., Chan, K., Chan, C. K., Khan, T. M., Lee, L., & Goh, B. (2018). Antioxidative Potential of a *Streptomyces* sp . MUM292 Isolated from Mangrove Soil. *BioMed Research International*, 2018, 13.
- Tatar, D., Guven, K., Sproer, C., Klenk, H.-P., & Sahin, N. (2014). *Streptomyces iconiensis* sp. nov. and *Streptomyces smyrnaeus* sp. nov., two halotolerant actinomycetes isolated from a salt lake and saltern. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 64, 3126–3133.
- Thatoi, H., Behera, B. C., Mishra, R. R., & Dutta, S. K. (2013). Biodiversity and biotechnological potential of microorganisms from mangrove ecosystems: A review. *Annals of Microbiology*, 63(1), 1–19.
- Verâne, J., Naiara, C. P., Verônica, L., & Almeida, M. De. (2020). Phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in mangrove sediments using *Rhizophora mangle*. *Marine Pollution Bulletin*, 160(March), 111687.
- Wang, C., Du, W., Lu, H., Lan, J., Liang, K., & Cao, S. (2021). A review: Halogenated compounds from marine actinomycetes. *Molecules*, 26(9), 1–19.
- Wang, C., Lu, Y., & Cao, S. (2020). Antimicrobial compounds from marine actinomycetes. *Archives of Pharmacal Research*, 43(7), 677–704.
- Xiao, Y. S., Zhang, B., Zhang, M., Guo, Z. K., Deng, X. Z., Shi, J., Li, W., Jiao, R. H., Tan, R. X., & Ge, H. M. (2017). Rifamorpholines A-E, potential antibiotics from locust-Associated actinobacteria: *Amycolatopsis* sp. Hca4. *Organic and Biomolecular Chemistry*, 15(18), 3909–3916.

Yazid, N. A., Barrena, R., Komilis, D., & Sánchez, A. (2017). Solid-State Fermentation as a Novel Paradigm for Organic Waste Valorization: A Review. *Sustainability*, *9*, 1–28.

Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, *13*(1), 1–26.