

**KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF AKTINOMISETES ASOSIASI  
BIOTA LAUT PERAIRAN INDONESIA SEBAGAI AGEN ANTIFUNGI  
TERHADAP *Malassezia globosa***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**Adhella Pragustiyanti Mintarjo**

**NPM 1957011007**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

## ABSTRAK

### KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF AKTINOMISETES ASOSIASI BIOTA LAUT PERAIRAN INDONESIA SEBAGAI AGEN ANTIFUNGI TERHADAP *Malassezia globosa*

Oleh

ADHELLA PRAGUSTIYANTI MINTARJO

Senyawa bioaktif dari aktinomisetes yang diasosiasikan dari biota laut menjadi sumber potensial bagi suatu penyakit. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa bioaktif antijamur (*Malassezia globosa*) dari ekstrak 6 isolat (18A13O1, 18D36A1, 18D36A2, 19A07A1, 19B19A1, dan 19C38A1) yang berasal dari perairan Gorontalo dan Bali, dengan memakai media standar *International Streptomyces Project medium 2* (ISP-2) dan media selektif kulit udang. Hasil skrining terbaik dari uji antijamur tersebut adalah ekstraksi isolat 19B19A1 pada media selektif kulit udang dengan konsentrasi 1mg/mL dibandingkan dengan isolat lain baik media ISP-2 maupun kulit udang. Hasil analisis FTIR isolat unggul dengan EtOAc, menghasilkan adanya serapan senyawa alkaloid pada bilangan gelombang 1237 cm<sup>-1</sup> gugus C-N ulur. Kemudian uji KLT-bioautografi dengan pemurnian kromatografi kolom dan melihat spot KLT, diperoleh senyawa aktif pada Rf 0.2 yang menunjukkan adanya senyawa alkaloid polar pada fraksi aktif 4 dengan berat kristal 0,006g.

**Kata Kunci:** Aktinomisetes, ISP-2, kulit udang, *Malassezia globosa*, alkaloid.

## ABSTRACT

### CHARACTERIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM ACTINOMYCETES ASSOCIATION OF INDONESIAN MARINE BIOTA AS ANTIFUNGAL AGENT AGAINST *Malassezia globosa*

By

ADHELLA PRAGUSTIYANTI MINTARJO

Bioactive compounds from marine associated actinomycetes organisms are potential source for treat infection disease. This study aims to obtain antifungal bioactive compounds (*Malassezia globosa*) from extracts of 6 isolates (18A13O1, 18D36A1, 18D36A2, 19A07A1, 19B19A1, and 19C38A1) from Gorontalo and Bali waters, using International Streptomyces Project medium 2 (ISP-2) standard media and shrimp skin selective media. The best screening result of the antifungal test was the extraction of isolate 19B19A1 on shrimp skin selective media with a concentration of 1mg/mL compared to other isolates both ISP-2 and shrimp skin media. The results of FTIR analysis of superior isolates with EtOAc, resulted of the presence of alkaloid compound absorption at wave number 1237  $\text{cm}^{-1}$  C-N stretching group. Then KLT-bioautography test with column chromatography purification and looking at the KLT spot, obtained an active compound at Rf 0.2 which indicates the presence of polar alkaloid compounds in active fraction 4 with a crystal weight of 0.006g.

**Keywords:** Actinomycetes, ISP-2, shrimp skin, *Malassezia globosa*, alkaloids

**KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF AKTINOMISETES ASOSIASI  
BIOTA LAUT PERAIRAN INDONESIA SEBAGAI AGEN ANTIFUNGI  
TERHADAP *Malassezia globosa***

**Oleh**

**Adhella Pragustiyanti Mintarjo**

**Skripsi**

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

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



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2023**

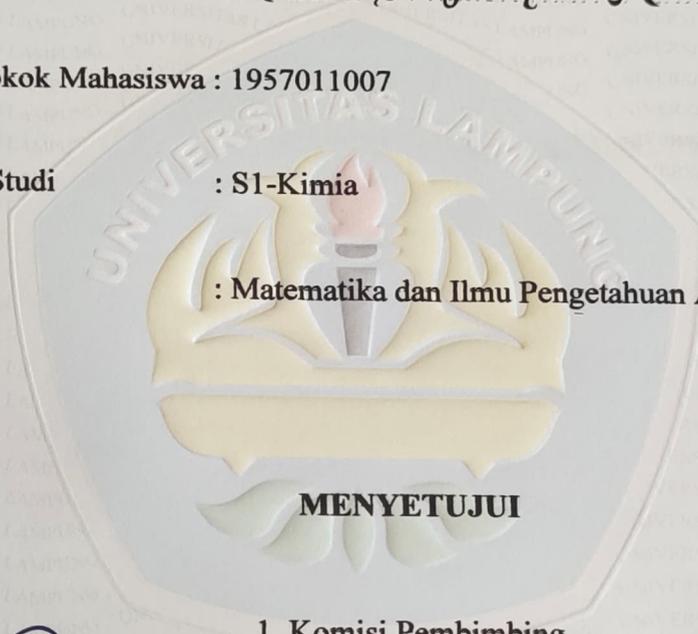
Judul Skripsi : **KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF  
AKTINOMISETES ASOSIASI BIOTA LAUT  
PERAIRAN INDONESIA SEBAGAI AGEN  
ANTIFUNGI TERHADAP *Malassezia globosa***

Nama Mahasiswa : **Adhella Pragustiyanti Mintarjo**

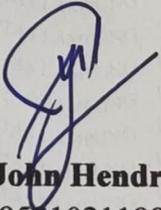
Nomor Pokok Mahasiswa : 1957011007

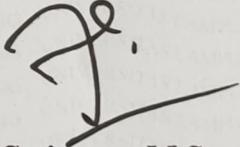
Program Studi : S1-Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

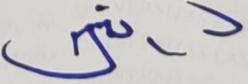


1. Komisi Pembimbing

  
**Prof. John Hendri, Ph.D.**  
NIP. 19581021198703001

  
**Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**  
NIP. 195809221988111001

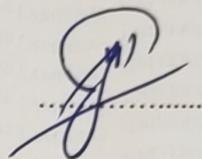
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA

  
**Mulyono, Ph.D.**  
NIP. 197406112000031002

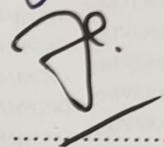
**MENGESAHKAN**

**1. Tim Penguji**

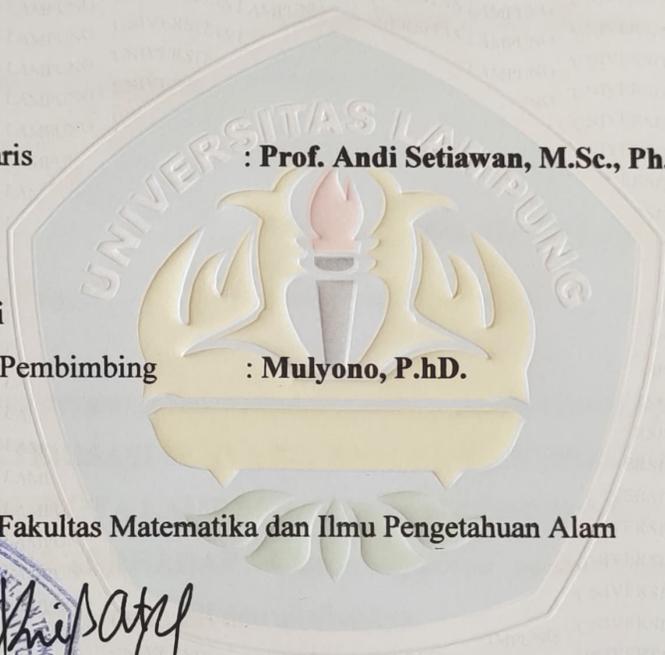
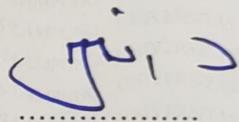
**Ketua : Prof. John Hendri, Ph.D.**



**Sekretaris : Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**



**Penguji  
Bukan Pembimbing : Mulyono, P.hD.**



**2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



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

**Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 04 Agustus 2023**

**SURAT PERNYATAAN  
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Adhella Pragustiyanti Mintarjo  
Nomor Pokok Mahasiswa : 1957011007  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul  
**“KARAKTERISASI SENYAWA BIOAKTIF AKTINOMISETES  
ASOSIASI BIOTA LAUT PERAIRAN INDONESIA SEBAGAI AGEN  
ANTIFUNGI TERHADAP *Malassezia globosa*”** adalah benar karya saya  
sendiri, baik gagasan, hasil dan analisisnya.

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

Bandar Lampung, 04 Agustus 2023  
Yar



**Adhella Pragustiyanti Mintarjo**  
NPM. 1957011007

## RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Adhella Pragustiyanti Mintarjo dilahirkan di Bandar Lampung, pada tanggal 15 Agustus 2001. Penulis merupakan putra dari pasangan Bapak Mintarjo dan Ibu Salmah Hasyim, dan merupakan anak pertama dari dua bersaudara. Saat ini penulis bertempat tinggal di Jl. Pulau Morotai Gang. Sederhana No.88A, Kelurahan Jagabaya III, Kecamatan Way Halim, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung.

Penulis telah menyelesaikan pendidikan mulai dari TK di TK Pratama 1 Bandar Lampung pada tahun 2007, Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Sawah Lama pada tahun 2013, SMP Negeri 23 Bandar Lampung lulus pada tahun 2016. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas pada tahun 2016 di SMA Swasta Yayasan Pendidikan UNILA, lulus pada tahun 2019. Mulai tahun 2019 hingga penulisan skripsi ini, penulis melanjutkan pendidikan di Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Lampung.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif berorganisasi dimulai dari organisasi Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung (BEM FMIPA UNILA) sebagai staff ahli dinas Sains dan Pengabdian Masyarakat pada tahun 2020-2021, sebagai bendahara eksekutif pada tahun 2021-2022, dan sebagai bendahara dinas Sains dan Pengabdian Masyarakat pada tahun 2022-2023.

Pada tahun 2022, Penulis menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi (UPT-LTSIT) dan Laboratorium Biopolimer, Fakultas MIPA, Universitas Lampung, yang diberi

judul “Karakterisasi Kitosan Dari Fungi Endofit Biota Laut Kode Sampel 18D36RF1 Menggunakan Media Potato Dextrose Broth (PDB)”. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari pada tanggal 10 Januari-18 Februari 2022 di Kelurahan Panjang Selatan, Kecamatan Panjang, Kota Bandar Lampung. Pada bulan Oktober 2022 - Juni 2023, Penulis melaksanakan penelitian di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi (UPT-LTSIT) dan Laboratorium Biopolimer, Fakultas MIPA, Universitas Lampung.

# MOTTO

*Let it Flow*

*Talk Less, Do More*

Yakin dan Syukuri atas Kemudahan yang Ada,  
maka Allah SWT. akan memudahkan semuanya.

“Tuhanmu lebih mengetahui apa yang ada dalam  
dirimu”.

(QS. Al-Isra: 25)

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.  
Apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah  
bekerja keras (untuk urusan yang lain). Dan hanya kepada  
Tuhanmulah engkau berharap”.

(QS. Al-Insyirah: 6-8)

## PERSEMBAHAN



### *Alhamdulillahirabbil 'alamiin*

Puji syukur kuucapkan kepada **Allah SWT**, segenap rasa syukur kupersembahkan karya ini sebagai tanda cinta dan kasih sayang serta baktiku kepada:

*Keluargaku Tercinta,*

### ***Bapak Mintarjo dan Ibu Salmah Hasyim***

Yang selalu memberikan cinta dan kasih sayang yang tulus, merawat dan mendidik dengan penuh keikhlasan dan kesabaran, mengajarkanku tentang kebaikan, serta tak henti-hentinya mendoakan, mendukung, berjuang dan berkorban untuk anakmu.

### ***Adikku Dewinta Fortuna Augustin***

Yang selalu menyayangi dan mendukung pilihan serta impian kakaknya

Segenap keluarga besarku yang selalu mendukung dan mendoakan keberhasilanku

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

Almamater Tercinta Universitas Lampung

Kepada diriku sendiri yang telah berjuang

## SANWACANA

*Alhamdulillahirrobbil'alamiin.* Puji syukur kehadiran Allah SWT. atas segala rahmat, karunia, dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Karakterisasi Senyawa Bioaktif Aktinomisetes Asosiasi Biota Laut Perairan Indonesia Sebagai Agen Antifungi Terhadap *Malassezia globosa*”**. *Sholawat* serta salam kepada Nabi Muhammad SAW, beserta para keluarga, sahabat, dan seluruh umatnya yang selalu taat mengamalkan ajaran dan sunnah-Nya. Teriring doa yang tulus, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua dan keluarga penulis yang telah memberikan segala kasih sayang, nasehat, motivasi, dukungan dan materi yang tak sedikit kepada Penulis. Terima kasih atas segala kebaikan, keikhlasan, kerja keras dan segala perjuangan kalian yang telah diberikan kepada Penulis.
2. Bapak Dr. Agung Abadi Kiswandono, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan motivasi dan bimbingan selama masa kuliah.
3. Bapak Prof. John Hendri, Ph.D. selaku dosen pembimbing pertama penelitian, atas segala bimbingan, motivasi, bantuan, nasihat, dan saran hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D. selaku dosen pembimbing kedua yang telah membimbing, membantu, memberikan nasihat, dan saran hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku dosen penguji dan Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung yang telah memberikan saran dan kritik yang sangat membangun dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu

Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lampung.

7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah mendidik serta memberikan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat kepada Penulis selama kuliah dan semoga ilmu yang diberikan membawa keberkahan
8. Bapak dan Ibu staff Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung dan Laboratorium Biopolimer atas izinnya untuk menyelesaikan penelitian.
9. *Partner* penelitian seperbimbingan “John Hendri Research” penulis; Wahidatun Nur Khasanah, S.Si., Wahyu Indah Silvi Budyanti, S.Si., dan Farich Andre Anas, S.Si. yang selalu membantu, menasehati, dan memberikan motivasi.
10. Rekan-rekan di UPT-LTSIT dan Laboratorium Biopolimer; Mba Widyastuti, Kak Ridho, Kak Fendi Setiawan, Kak Rizky Fadilah, Mba Nafila, Mba Caca, Kak Ikromudin, Mba Saras, Mba Rana, Mba Laras, Mba Ica, Mba Irma, Mba Firda, Kak Lanang, Kak Indra, Mba Wulan, dan Mba Mega atas semangat dan bantuan yang diberikan.
11. Teman-teman UPT-LTSIT Angkatan 2019; Reza Fadhila, Fatur Rohim, Riski Pangestu, Novita Darmastuti, Siti Solehati, Sinur Angelina, Sulfiany, Ibnu Fadilah, Cici Nurhidayah atas semangat dan bantuan yang diberikan.
12. Keluarga kimia 2019 yang tidak dapat disebutkan satu per satu, terimakasih atas kebersamaan dan keceriaan dalam melalui hari demi hari di kehidupan kampus.
13. Kelas “C is Caring for Each Other” yang telah kebersamai dalam proses perkuliahan selama empat tahun, memberikan kritik dan saran kepada penulis. Semoga Allah SWT. melancarkan dan menyukseskan setiap urusan kita semua
14. BEM FMIPA Unila yang telah memberikan pengalaman yang luar biasa kepada penulis.
15. Seluruh keluarga besar Jurusan Kimia FMIPA. Semua Pihak yang telah membantu dan mendukung penulis dalam penyusunan skripsi ini.
16. Almamater tercinta, Universitas Lampung.
17. Semua pihak yang telah membantu dan mendoakan Penulis dengan tulus dalam proses penyelesaian skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

18. Terakhir, terima kasih untuk diri sendiri karena telah mampu berusaha keras dan berjuang sejauh ini. Mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan diluar keadaan dan tak pernah menyerah sesulit apapun proses penyusunan skripsi ini dengan menyelesaikan sebaik dan semaksimal mungkin, ini merupakan pencapaian yang patut dibanggakan untuk diri sendiri.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan yang telah mereka berikan kepada penulis dan semoga karya sederhana ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, Penulis memohon maaf atas segala kekurangan tersebut dan berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang membaca, khususnya rekan-rekan mahasiswa kimia

Bandar Lampung, 04 Agustus 2023

Penulis

Adhella Pragustiyanti Mintarjo

## DAFTAR ISI

Halaman

<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>ix</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian .....	3
1.3 Manfaat Penelitian .....	3
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1 Perairan Indonesia.....	4
2.2 Perairan Gorontalo .....	5
2.3 Perairan Bali.....	6
2.4 Kulit Udang dan Kitin.....	6
2.5 Krustasea .....	7
2.6 <i>Sponge</i> .....	8
2.7 Aktinomisetes.....	9
2.8 Aktinomisetes Sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif.....	11
2.9 <i>Submerged Fermentation</i> (SmF).....	12
2.10 <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) .....	13
2.11 Antifungi .....	14
2.12 <i>Malassezia globosa</i> .....	15
2.13 Kromatografi .....	16
2.14 <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	17
2.15 <i>High Throughput Screening Assay</i> (HTS Assay) .....	18
2.16 KLT Bioautografi.....	19
<b>III. METODE PENELITIAN</b> .....	<b>20</b>
3.1 Waktu dan Tempat .....	20
3.2 Alat dan Bahan.....	20
3.3 Prosedur Penelitian.....	21
3.3.1 Peremajaan .....	21

3.3.2 Kultivasi dan Ekstraksi .....	21
3.3.2.1 <i>Submerged Fermentation</i> (SmF).....	22
3.3.2.2 <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) .....	22
3.3.3 Skrining Aktivitas Antifungi.....	23
3.3.4 Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	23
3.3.5 Identifikasi Morfologi Isolat Unggul .....	24
3.3.6 Karakterisasi Senyawa Bioaktif Menggunakan <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) .....	24
3.3.7 Kultivasi Skala Besar Isolat Unggul dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif .....	25
3.3.8 Pemurnian Senyawa .....	25
3.3.9 Uji KLT-Bioautografi Metode Difusi Agar .....	26
<b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>27</b>
4.1 Peremajaan Isolat Aktinomisetes .....	27
4.2 Kultivasi dan Ekstraksi .....	28
4.3 Skrining Aktivitas Antifungi.....	30
4.4 Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	31
4.5 Identifikasi Morfologi Isolat Unggul .....	33
4.6 Karakterisasi Isolat Unggul Menggunakan <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR) .....	33
4.7 Kultivasi Skala Besar Isolat Unggul dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif .....	34
4.8 Pemurnian Senyawa Bioaktif.....	35
4.9 Uji KLT-Bioautografi Metode Difusi Agar .....	38
<b>V. SIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
5.1 Simpulan .....	40
5.2 Saran.....	40
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>41</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>49</b>

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Peta Perairan Indonesia .....	5
2. Struktur Kitin .....	7
3. Morfologi Sponge .....	8
4. Pertumbuhan Isolat Aktinomisetes Pada Media Kultur .....	10
5. Struktur Spora dari Aktinomisetes .....	11
6. Senyawa Antijamur Dari Aktinomisetes.....	12
7. Penyakit Kulit Pada Kepala .....	16
8. KLT Bioautografi Terhadap Aktivitas Antijamur.....	19
9. Hasil Peremajaan Isolat Aktinomisetes Gorontalo dan Bali .....	27
10. Kultivasi pada (a) Media Cair ISP-2 dan (b) Media Padat Kulit Udang .....	28
11. % Inhibisi Antifungi terhadap <i>Malassezia globosa</i> .....	31
12. Hasil Metode KLT Senyawa Alkaloid dengan fase diam alumunium silica gel DC kiessel 60 F <sub>254</sub> dan fase gerak eluen n-heksana: etil asetat (10: 1) ....	32
13. Morfologi Isolat 19B19A1 (a) Mikroskop Zeiss Axioo Imager with ApoTome 2 Zeiss Z2 Pada Perbesaran 400 x dan (b) <i>Scanning Electron Microscope</i> (SEM) Pada Perbesaran 3.5 Kx.....	33
14. Spektrum FTIR ekstrak kasar isolat unggul 19B19A1 .....	34
15. (a) Penjumlahan Kultivasi (Bioreaktor), (b) Kultivasi Media Padat Kulit Udang; dan (c) Hasil Ekstrak Kasar.....	35
16. Pemisahan Senyawa Isolat Unggul 19B19A1 Menggunakan Kromatografi Kolom .....	36
17. 4 Fraksi Gabungan Supernatan Ekstrak Senyawa (a) UV 254 nm (b) Reagen Serum Sulfat .....	36

18. Menghasilkan Keaktifan Senyawa Pada Fraksi 2 .....	37
19. Hasil KLT 6 Fraksi Gabungan (a) UV 254 nm dan (b) Reagen Serium Sulfat .....	38
20. Hasil Akhir Uji KLT Bioautografi Pada Fraksi 1 Sampai Fraksi 6 .....	38
21. (a) KLT Reagen Serium Sulfat (b) KLT Reagen Dragendorff, dan (c) Hasil Akhir Kristal .....	39
22. Uji Aktivitas Antijamur.....	54

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1 Tabel Serapan FTIR Senyawa Alkaloid.....	18
2 Ekstrak Kasar Kultivasi Media ISP-2 dan Kulit Udang .....	29
3. Inokulum Kultivasi .....	51
4. Kultivasi Media.....	52
5. Hasil Skrining Antifungi.....	53
6 Nilai Rf Hasil Pola KLT Antifungi.....	54
7. Bilangan Gelombang Senyawa Alkaloid .....	55

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kesadaran masyarakat dalam kesehatan sangat kurang dikarenakan banyak penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur, seperti *Malassezia sp.* (Abdul dkk., 2020). Indonesia sebagai negara beriklim tropis disertai curah hujan tinggi sangat memungkinkan akan perkembangan penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur. Jamur dengan mudah dapat menular lewat sentuhan kulit atau juga dari pakaian yang terkontaminasi spora jamur (Hayati, 2014). *Malassezia* dapat menyebabkan beberapa kondisi dermatologis, seperti *tinea versicolor* (Lestari dkk., 2021), *pityriasis versicolor*, dermatitis atopik, ketombe, dermatitis seboroik, dan folikulitis tetapi juga berperan dalam infeksi sistemik. Baru-baru ini *Malassezia* dikaitkan dengan penyakit kronis yaitu penyakit radang usus (IBD), kanker, dan gangguan neurologis seperti penyakit Alzheimer (Ehemann *et al.*, 2022).

Obat tradisional seringkali digunakan untuk mengatasi masalah ini, salah satunya pemanfaatan bawang putih (Sukma, 2016), senyawa bromelain pada kulit nanas (Widowati dkk., 2020), ekstrak daun ketepeng cina (Yusuf dkk., 2020), cuka apel (Itsa dkk, 2018), dan bahan alam lainnya. Namun kurun waktu ini, pemanfaatan senyawa obat dari mikroorganisme telah banyak dilakukan khususnya sebagai antijamur. Salah satu mikroorganisme penghasil senyawa bioaktif yaitu aktinomisetes. Pada penelitian di tahun-tahun sebelumnya lebih banyak menfokuskan target isolasi pada aktinomisetes tanah. Namun demikian, sekarang ini pencarian senyawa bioaktif baru sudah mengarah pada aktinomisetes laut. Laut memiliki biodiversitas lebih besar dibandingkan dengan tanah seperti diketahui jenis mikroorganismenya juga akan lebih bervariasi dibandingkan mikroba tanah

(Das *et al.*, 2006). Aktinomisetes merupakan kelompok mikroorganisme yang banyak tersebar luas di alam khususnya pada biota laut. Aktinomisetes yang memiliki kemampuan untuk mensintesis metabolit sekunder, enzim, dan antibiotik lainnya (Oskay *et al.*, 2004).

Indonesia mempunyai daerah laut yang luas  $\pm 3.446.488 \text{ km}^2$  dengan kekayaan alam yang sangat potensial sehingga dalam menemukan senyawa baru lebih besar (Sarwono, 2010). Antibiotik dari aktinomisetes laut yang digunakan untuk mengobati suatu penyakit, sekitar kurang lebih 24 jam jamur yang tumbuh harus terus dipantau perkembangannya secara efektif guna mengurangi adanya jamur dalam masalah kesehatan (Al-Ansari *et al.*, 2020). Ali, (2009) melaporkan senyawa *Actinomycetes* dari genus *Streptomyces*. dan *Nocardia sp.* mampu menghambat jamur pada waktu 48 jam inkubasi. Maka pemantauan aktivitas jamur dilakukan dengan modifikasi waktu pada pengujian hambatan jamur dan pembunuhan jamur. Hal ini dapat meningkatkan potensi pembunuhan jamur, mengurangi munculnya resistensi antijamur, dan memperluas spektrum aktivitas, yang selanjutnya memperpendek durasi terapi antijamur serta mengurangi tingkat kematian (Khalifa *et al.*, 2021).

Pada penelitian ini akan dilakukan karakterisasi senyawa bioaktif aktinomisetes asosiasi biota laut sebagai agen antifungi terhadap *Malassezia globosa* yang dikultivasi pada media standar *International Streptomyces Project medium 2* (ISP-2) dan media selektif kulit udang. Terdapat 6 isolat yang berasal dari deposit UPT-LTSIT Universitas Lampung dari Perairan Oluhuta, Teluk Tomini, Gorontalo dan Perairan Buleleng, Pulau Bali, Bali. Pengkultivasian dilakukan dengan metode *Submerged Fermentation* pada media *International Streptomyces Project medium 2* (ISP-2) dan metode *Solid State Fermentation* (SSF) pada kulit udang. Untuk mendapatkan senyawa bioaktif dilakukan dengan teknik ekstraksi yang dipekatkan menggunakan *rotary evaporatory* dan kromatografi kolom untuk mendapatkan fraksi senyawa murni. Hasil uji aktivitas senyawa bioaktif aktinomisetes dilakukan dengan teknik uji KLT-Bioautografi dengan waktu 24 jam dan di analisis profilik senyawa bioaktif diperiksa dengan menggunakan

KLT. Kemudian ekstrak isolat unggul dilakukan karakterisasi senyawa dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

## **1.2 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengkultivasi dan mengekstraksi senyawa bioaktif aktinomisetes pada media *International Streptomyces Project medium 2* (ISP-2) dan kulit udang
2. Skrining isolat aktinomisetes yang berasal dari Perairan Gorontalo dan Bali
3. Karakterisasi hasil ekstraksi isolat unggul aktinomisetes sebagai antijamur
4. Menentukan kemampuan senyawa bioaktif tersebut dalam daya hambat terhadap fungi patogen *Malassezia globosa*

## **1.3 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi terkait senyawa bioaktif dari isolat aktinomisetes asosiasi biota laut sebagai antifungi.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Perairan Indonesia**

Indonesia menyatakan kepada dunia bahwa laut Indonesia satu kesatuan wilayah NKRI dan sebagai negara kepulauan yang telah diakui dunia internasional melalui konvensi hukum laut PBB ke tiga. Indonesia sebagai negara tropis, kaya akan sumberdaya hayati yang dinyatakan dengan tingkat keanekaragaman hayati yang tinggi (Lasabuda, 2013). Sumberdaya laut Indonesia mempunyai potensi yang tinggi, khususnya ikan merupakan salah satu penyediaan pangan bagi masyarakat (Hoek dkk., 2015). Perairan Indo-Pasifik yang sebagian besar terletak di perairan Indonesia merupakan pusat keanekaragaman terumbu karang dunia dengan lebih dari 400 spesies dan berbagai jenis ganggang laut tersebar di berbagai wilayah pantai. Selain memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi juga mempunyai luas habitat yang besar, yaitu: 2,4 juta ha kawasan hutan bakau dan 8,5 juta ha terumbu karang (Lasabuda, 2013).



**Gambar 1.** Peta Perairan Indonesia (Mas Min, 2023)

Secara geografis Indonesia memiliki tiga perempat wilayahnya adalah laut (5,9 juta km<sup>2</sup>) dengan panjang garis pantai 95.161 km dimana 1,08% atau 62.600 km<sup>2</sup> dilindungi sebagai taman nasional (Hanif *et al.*, 2019). Keistimewaan kawasan ini tidak hanya mencakup kekayaan spesies dan keanekaragaman habitat, tetapi juga kondisi yang relatif murni. Pemahaman tentang dasar-dasar keanekaragaman hayati diperoleh melalui penyelidikan molekul bioaktif dengan melakukan penyelidikan kimia individu pada spesimen kecil untuk mengurangi biaya dan meminimalkan dampak lingkungan. Caranya dengan menggunakan fermentasi dan kultur mikroba laut (Capon, 2010).

## 2.2 Perairan Gorontalo

Sulawesi Tengah diperkirakan memiliki luas perairannya sekitar 3 kali luas daratan 193.923, 75 km<sup>2</sup> membentang di sepanjang wilayah timur sejauh Teluk Tolo dan Teluk Tomini dan sebelah barat adalah Selat Makassar dan sebagian dari Laut Sulawesi. Potensi kelautan perairan di Sulawesi Tengah diperkirakan mencapai 1.593.796 ton per tahun sehingga memiliki potensi yang sangat besar karena perairan laut yang luas (Samudin and Mamar, 2019). Provinsi Gorontalo yang berada di kawasan Teluk Tomini memiliki luas perairan kurang lebih 43.100 km<sup>2</sup> dengan panjang garis pantai 438.1 km (Tuli dkk., 2019). Teluk Tomini

secara administratif meliputi dua bagian yaitu Teluk Tomini di sebelah Timur berbatasan dengan Laut Maluku, sedangkan di sebelah Timur Laut berbatasan dengan Laut Sulawesi (Madjowa *et al.*, 2020).

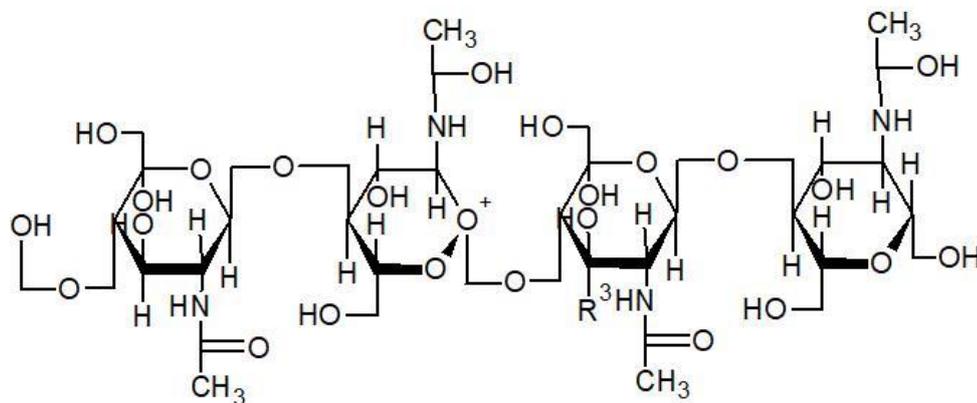
### **2.3 Perairan Bali**

Kabupaten Buleleng yang secara geografis terletak di bagian utara Pulau Bali memiliki potensi kelautan cukup tinggi karena panjang pantai yang luas mencapai 157,05 km (Yudasmara, 2016). Mengingat ekosistem terumbu karang Kabupaten Buleleng, diperlukan suatu kesepakatan dan komitmen bersama yang melibatkan masyarakat dan berdasarkan data-data ilmiah tentang zona pemanfaatan sumberdaya pesisir di Kawasan Pesisir Kabupaten Buleleng (Prasetia, 2015). Terumbu karang di kawasan pesisir Buleleng memiliki gugusan karang yang sangat khas. Berdasarkan hasil pengamatan pada 3 stasiun pengamatan (pesisir Buleleng timur, pesisir Buleleng tengah dan pesisir Buleleng barat), memiliki kontur karang yang beranekaragam dari kontur yang datar sampai ke kontur yang tiba-tiba berubah drastis menjadi terjal atau dalam istilah selam disebut “drop off”. Kondisi terumbu karang di stasiun ini tergolong dalam kategori baik yaitu 77,13 % dengan memberikan pengaruh terhadap peningkatan jumlah karang lunak dan *sponge* pada rata-rata terumbu dan profil dindingnya yang hampir tegak lurus (Yudasmara, 2016).

### **2.4 Kulit Udang dan Kitin**

Kulit udang merupakan salah satu golongan hewan krustasea yang mengandung protein 25-40%, kalsium karbonat 45-50%, dan kitin 15-30% (Marganov, 2003). Adapun limbah padat kulit udang yang dihasilkan selama pengolahan memiliki jumlah sekitar 50% dari volume bahan baku (udang utuh). Limbah kulit udang dapat diatasi dengan mengubahnya menjadi produk yang memiliki nilai tambah seperti sumber untuk produksi enzim, asam laktik dan produksi kitin (Duan *et al.*, 2012). Melalui berbagai penelitian yang telah dilakukan limbah kulit udang ini memiliki potensi yang besar sebagai penghasil kitin.

Kitin merupakan polimer alami yang banyak terkandung dalam makhluk hidup. Kitin biasanya diproduksi dari limbah binatang bercangkang seperti kulit udang, rajungan, kerang, yang berupa kepala, kulit, kaki dan ekor (*crustaceae*). Kitin didapat dengan cara deproteinasi dan demineralisasi menggunakan asam dan basa kuat (Sarwono, 2010). Kitin atau poli ( $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 4)-N-asetil-D-glukosamin) adalah polisakarida alami yang sangat penting. Biopolimer ini disintesis oleh sejumlah besar makhluk hidup organisme dan itu milik polimer alam yang paling melimpah, setelah selulosa (Younes and Rinaudo, 2015).



**Gambar 2.** Struktur Kitin (Hendri dan Aspita, 2013).

Kitin merupakan biopolimer yang tersusun atas unit N-asetil-D-Glukosamin. Struktur kitin sangat mirip dengan selulosa yang membedakan pada gugus asetamida diganti oleh gugus hidroksil pada atom karbonnya. Kitin mempunyai massa molekul  $1,03.10^6 - 2,5.10^6$  Da dan merupakan senyawa biopolimer berantai panjang dan tidak bercabang (Cahyono Eko, 2018).

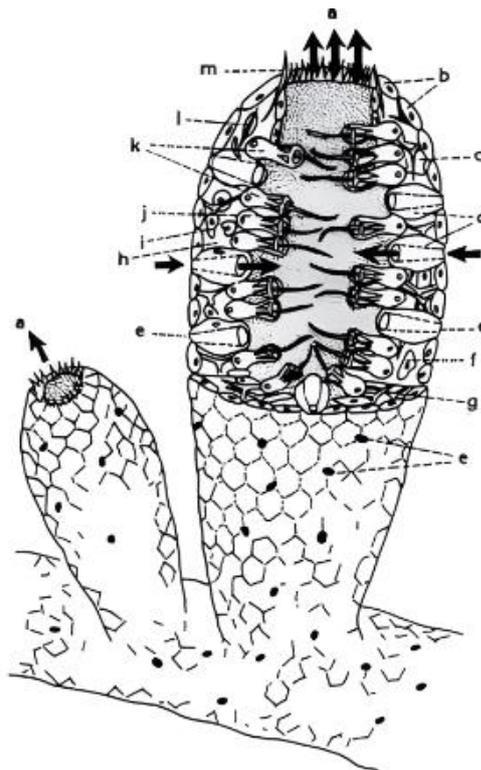
## 2.5 Krustasea

Krustasea merupakan salah satu hewan benthos disamping moluska yang memakan bahan tersuspensi (*filter feeder*) (Rahayu dkk., 2017). Krustasea membentuk takson *arthropoda* yang besar dan beragam yang mencakup hewan yang dikenal seperti kepiting, lobster, udang, dan teritip. Krustasea merupakan invertebrata yang memiliki 6 kelas yang meliputi *Branchiopoda*, *Remipedia*,

*Cephalocarida, Maxillopoda, Ostracoda* dan *Malacostraca*. Krustasea dapat hidup di sungai, laut, payau atau daerah mangrove, namun krustasea yang dapat hidup di lingkungan tersebut hanya jenis tertentu (Duya dan Rista, 2019).

## 2.6 *Sponge*

*Sponge* sebagai invertebrata laut multi sel yang fungsi jaringan dan organnya sangat sederhana. Biota laut ini dikenal dengan *filter feeders*, yaitu mencari makanan dengan mengisap dan menyaring air melalui sel cambuk dan memompakan air keluar melalui oskulum. *Sponge* mengandung komponen metabolik primer dan sekunder yang berpotensi mengandung zat aktif komponen kimia tertentu sehingga bermanfaat sebagai bahan baku obat dan kosmetik (Marzuki, 2018).



**Gambar 3.** Morfologi *Sponge* (Amir dan Budiyanto, 1996).

Keterangan :

- a : Oskula
- b : Sel penutup (pinakosit)
- c : Sel amobosit
- d : Sel pori (porosit)
- e : Pori saluran masuk (ostia)
- f : Telur
- g : Spikula triaxon
- h : Mesohil
- i : Sel mesenkim
- j : Bulu cambuk (flagella)
- k : Sel kolar (choanosit)
- l : Sklerosit
- m : Spikula monoaxon

Adapun pada penelitian Payangan (2018) telah diuji *Sponge Phyllospongia lamellose* yang diasosiasi dengan *fungi Candida albicans* bahwa terdapat uji aktivitas mikroba yang menghasilkan kategori sangat kuat. Dimana suatu senyawa antimikroba mampu menghambat pertumbuhan mikroba jika pemberian secara terus-menerus dan jika penambahan senyawa dihentikan atau habis maka pertumbuhan mikroba akan meningkat.

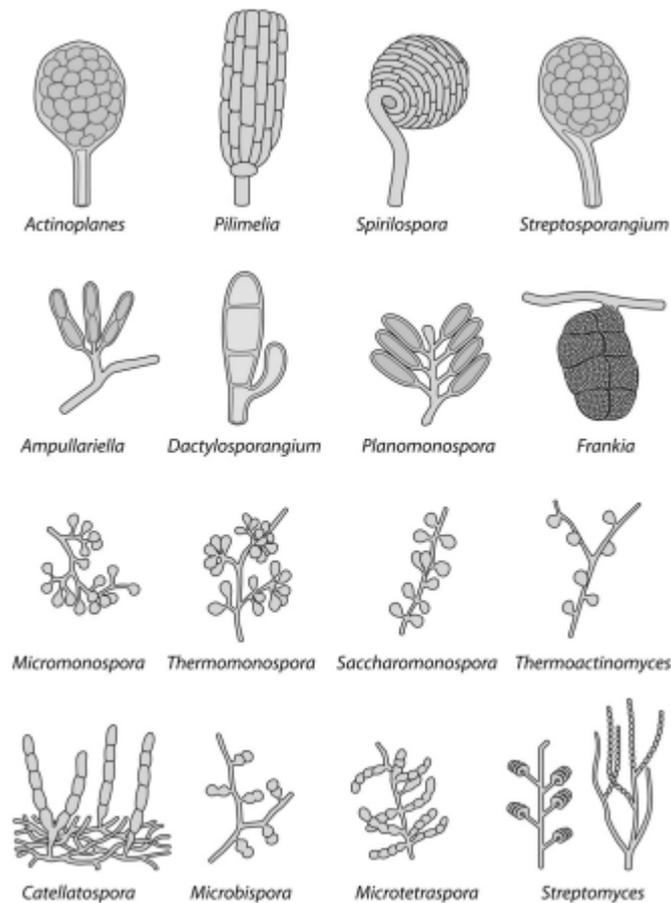
## 2.7 Aktinomisetes

Aktinomisetes adalah bentuk peralihan bakteri dan fungi yang banyak ditemukan di tanah dan juga sedimen. Selama lebih dari 70 tahun, aktinomisetes (ordo *Actinomycetales*) telah diakui sebagai sumber penting bagi senyawa bioaktif alami (Ratnakomala dkk., 2017). Banyak aktinomisetes yang memiliki kemampuan untuk mensintesis metabolit sekunder seperti enzim, herbisida, pestisida, dan antibiotik lainnya. Dengan kemampuan aktinomisetes ini, peneliti-peneliti mulai mencoba mencari antibiotik baru pada aktinomisetes laut. Laut memiliki biodiversitas lebih besar dibandingkan dengan tanah sehingga jenis mikroorganismenya lebih bervariasi daripada mikroba tanah (Das *et al.*, 2006).



**Gambar 4.** Pertumbuhan Isolat Aktinomisetes Pada Media Kultur (Li *et al.*, 2016).

Miselium udara dari aktinomisetes juga merupakan hifa miselium substrat yang dapat berkembang ke tahap tertentu dan tumbuh ke udara. Terkadang antara keduanya susah dibedakan, tetapi dapat dibedakan dengan adanya preparasi pada cover slip, yaitu dengan cara dilihat pada mikroskop cahaya dengan bentuk morfologi hifa substrat berbentuk ramping, transparan, dan gelap (Dhanasekaran and Jiang., 2016). Diantara yang termasuk aktinomisetes, kelompok *Streptomyces* merupakan kelompok yang penting secara ekonomis, karena lebih dari 10.000 antibiotik yang telah ditemukan saat ini (Subramani *et al.*, 2020).



**Gambar 5.** Struktur Spora Dari Aktinomisetes (Barka *et al.*, 2016).

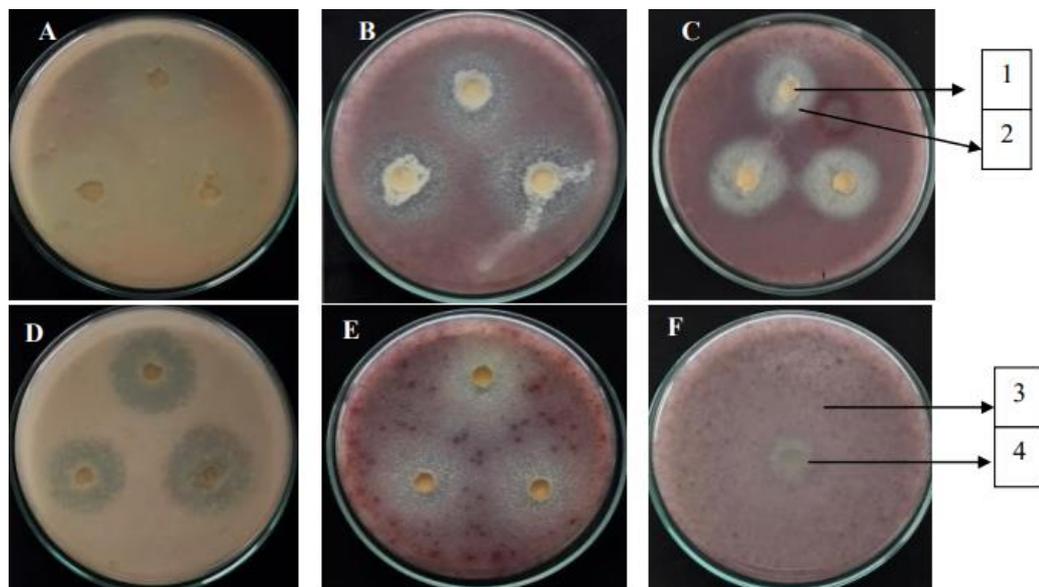
## 2.8 Aktinomisetes Sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif

Senyawa bioaktif adalah senyawa yang diproduksi secara alami dari berbagai spesies jamur dan bakteri. Mikroorganisme yang mampu menghasilkan metabolit sekunder tersebut adalah aktinomisetes. Pentingnya karena kemampuan aktinomisetes untuk menghasilkan kelas yang berbeda dari antibiotik dalam hal struktur kimia dan mekanisme. Selain itu, berbagai spesies aktinomisetes mampu menghasilkan kelas antibiotik yang sama (Grasso *et al.*, 2016).

Aktinomisetes memiliki variasi morfologi sel, termasuk kokoid (*Micrococcus*), batang (*Mycobacterium*), dan batang-kokoid (*Arthrobacter*), spora bercabang yang mengandung hifa (*Micromonospora*), bentuk hifa yang terfragmentasi (*Nocardia sp.*), dan juga membentuk miselia bercabang permanen dan

berdiferensiasi (*Streptomyces sp.*, *Frankia*) (Barka *et al.*,2016). Dari sudut pandang genetik, gen yang terlibat dalam biosintesis antibiotik dan metabolit lain termasuk dalam metabolisme sekunder terletak di genom mikroorganisme. Umumnya, dimungkinkan untuk mengidentifikasi urutan pengkodean (gen) yang mampu mempromosikan atau menghambat ekspresi gen yang merespon perubahan lingkungan tertentu. Gen-gen ini mengodekan enzim yang terlibat dalam perakitan dan pengeditan senyawa bioaktif dalam melindungi sel dari toksisitasnya (Nodwell, 2017).

Telah banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui potensi antijamur dan antibakteri dari isolat aktinomisetes. Queendy dan Roza pada tahun 2019, melaporkan bahwa adanya aktivitas antijamur dari 32 isolat aktinomisetes, 31 diantaranya memiliki potensi antijamur. Secara keseluruhan terdapat empat isolat aktinomisetes yang mampu membentuk zona bening, yaitu C1.15, B1.07, D2.31 dan C2.21. Selebihnya menghasilkan zona hambat yang keruh.



**Gambar 6.** Senyawa Antijamur dari Aktinomisetes (Queendy dan Roza, 2019).

## 2.9 Submerged Fermentation (SmF)

*Submerged Fermentation* (SmF) adalah salah satu metode fermentasi yang telah digunakan oleh industri sebagai contoh dalam produksi enzim, karena kontrol

yang lebih baik dari parameter yang mempengaruhi hasil dari temperatur produk dan pH untuk penskalaan proses untuk kapasitas produksi industri. Keuntungan dari *Submerged Fermentation* adalah lebih mudah dikelola dan tahan lama, serta aplikasi industri lebih disukai daripada terendam fermentasi (Janusz *et al.*, 2015). Dengan adanya media standar ISP-2 dapat mengetahui pertumbuhan atau perkembangan aktinomisetes.

*International Streptomyces Project medium* adalah media yang menggabungkan ekstrak ragi dan ekstrak gandum yang dilakukan pada fase cair dalam pelarut yang sesuai isolat gunakan. *International Streptomyces Project medium* (ISP) dibagi dalam beberapa media yaitu media ISP 1 menggunakan ekstrak tryptone-yeast, media ISP 2 menggunakan ekstrak ragi-ekstrak malt agar, sedangkan ISP 4 menggunakan *anorganic salts-starch agar*. Media ISP dikembangkan oleh Difco Laboratories untuk memilih stabil sifat dan prosedur yang dapat direproduksi. Untuk karakterisasi Spesies *Streptomyces* ekstrak ragi dan ekstrak malt menyediakan nitrogen, asam amino dan vitamin dalam ISP Medium 2. Dekstrosa adalah sumber karbon. Pada penelitian ini digunakan isolat asosiasi biota laut yang berasal dari Perairan Indonesia sehingga digunakan pelarut *Artificial Sea Water* (ASW) (Chaiharn *et al.*, 2020).

## **2.10 Solid State Fermentation (SSF)**

*Solid-State Fermentation* didefinisikan sebagai fermentasi yang melibatkan padatan tanpa (atau hampir tidak ada) air; namun, substrat harus memiliki kelembapan yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme (Pandey *et al.*, 2000). Bahan padatan dapat berupa sumber karbon (dan nutrisi lainnya), atau dapat menjadi bahan inert untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme di atasnya. Potensi SSF adalah untuk menyediakan mikroorganisme yang dibudidayakan suatu lingkungan di mana biasanya mereka ada dan mereka diisolasi. Hal ini rupanya merupakan faktor utama mengapa mikroba bekerja dengan baik dan memberikan hasil produk yang lebih tinggi dalam SSF jika dibandingkan dengan fermentasi cair yang dilakukan dalam

bioreaktor tertutup, meskipun dengan kondisi pertumbuhan dan aktivitas yang optimal (Nigam and Pandey, 2009).

SSF merangsang pertumbuhan mikroorganisme di alam pada padatan lembab (Mitchell and Lonsane, 1990). Studi telah mengidentifikasi rangsangan lingkungan spesifik SSF yang memiliki efek besar terhadap produksi metabolit sekunder. Metabolit sekunder (SM) adalah senyawa dengan struktur kimia yang bervariasi, yang dihasilkan oleh mikroorganisme setelah fase pertumbuhan yang cepat. Metode *Solid State Fermentation* merupakan teknik yang efisien, murah, dan ramah lingkungan untuk mengubah sampah organik menjadi turunannya. Pemanfaatan aktinomisetes dari laut sebagai pengurai limbah cangkang udang menjadi produk oligomer masih sangat terbatas. Aktinomisetes diketahui dapat menguraikan bahan organik karena mampu menghasilkan berbagai macam enzim; salah satunya adalah kitinase, yang sangat cocok untuk menguraikan biopolimer di alam menjadi bentuk sederhana (Setiawan *et al.*, 2022). Pada jamur penghasil *Coniochaeta ellipsoidea*, menghasilkan antibiotik hanya di SSF (MP Segreth *et al.*, 2003).

## 2.11 Antifungi

Penyakit kulit yang disebabkan infeksi jamur merupakan penyakit yang sering dijumpai di negara tropis. Menurut Kemenkes (2013), iklim tropis dan kelembapan udara yang tinggi merupakan salah satu faktor penyebab infeksi jamur kulit di Indonesia. Beberapa jenis *fungi* merugikan dapat menyebabkan penyakit pada manusia, hewan, tumbuhan, dan menyebabkan pembusukan pada makanan. Pola hidup yang kurang sehat dan didukung iklim tropis dengan kelembapan udara tinggi di Indonesia memengaruhi pertumbuhan fungi (Ningrum dkk., 2021).

Antifungi adalah antibiotik yang mampu menghambat hingga mematikan pertumbuhan fungi. Antifungi mempunyai dua pengertian yaitu fungisidal dan fungistatik. Fungisidal didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat

membunuh jamur, sedangkan fungistatik dapat menghambat pertumbuhan jamur tanpa mematikannya. Mekanisme kerja senyawa antifungi menghambat biosintesis kitin, biosintesis glukukan, merusak fungsi mannoprotein, interaksi dengan ergosterol (Franklin and Snow, 2005). Untuk menghambat ataupun membunuh jamur, terdapat berbagai macam senyawa bioaktif yang dapat mengatasinya salah satunya senyawa alkaloid. Senyawa alkaloid dapat bekerja secara sinergis dengan flavonoid, saponin, dan tannin dalam hal mekanisme antifungi. Olivia *et al.*, 2004 menyebutkan bahwa senyawa alkaloid memiliki efek sebagai antijamur.

### **2.12 *Malassezia globosa***

*Malassezia* hampir secara eksklusif merupakan eukariotik tunggal anggota flora mikroba kulit. *Malassezia* telah diakui selama lebih dari 150 tahun sebagai anggota manusia flora kulit dan agen etiologi penyakit kulit tertentu. Pada mulai tahun 1800, tercatat bahwa sel ragi dan filamen hadir dalam sisik kulit pasien dengan *pityriasis versicolor*, seperti contohnya ketombe. Ketombe adalah kondisi kulit patologis pada kulit kepala dan ditandai dengan pengelupasan dengan peradangan. Genus *Malassezia* mencakup tujuh spesies, tiga taksa sebelumnya (*M. furfur*, *M. pachydermatis*, dan *M. sympodialis*) dan empat taksa baru (*M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta*, dan *M. slooffiae*). Selain itu, *M. globosa* dan *M. restricta* adalah ditemukan pada kulit hampir semua manusia. Telah menunjukkan bahwa asam oleat bertanggung jawab atas sebum kulit kepala dihasilkan dari hidrolisis trigliserida oleh *M. globose lipase*. Data ini sangat mengimplikasikan *M. globosa* dalam patogenesis ketombe (Prete *et al.*, 2016).



**Gambar 7.** Penyakit Kulit Pada Kepala (Luthfi, 2021)

Populasi khamir *Malasseziafurfur.*, *M. globosa*, *Pytirosporu movale* dan *Candida albicans* meningkat nyata pada individu yang berketombe (Rudramurthy *et al.*, 2014). Karena itu, pengobatan ketombe ditujukan untuk mengurangi sebum pada kulit kepala dan menghambat pertumbuhan dan aktivitas populasi khamir penyebab ketombe (Schwart *et al.*, 2012). Penapisan senyawa bioaktif ekstrak jeruk purut dilakukan berdasarkan Harborne (1998). Ekstrak metanol dan ekstrak diklormetan buah jeruk purut 400  $\mu\text{g}$  dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan khamir penyebab ketombe (Chowdhury *et al.*, 2009).

### **2.13 Kromatografi**

Kromatografi merupakan suatu teknik pemisahan molekul berdasarkan perbedaan pola pergerakan antara fase gerak dan fase diam untuk memisahkan komponen yang berada pada larutan. Adapun fase gerak adalah sistem kromatografi yang berfungsi untuk mendorong agar komponen – komponen cuplikan tidak dapat bergerak dan fase diam adalah sistem kromatografi yang berfungsi untuk mempengaruhi komponen – komponen cuplikan tetap diam pada posisinya. Berbagai macam jenis kromatografi sebagai berikut:

1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode yang menggunakan lempeng kaca atau lembaran plastik yang ditutupi penyerap untuk lapisan tipis dan kering bentuk silika gel aluminium. Kromatografi Lapis Tipis digunakan sebagai penentuan jumlah komponen dalam campuran, penentuan identitas antara dua campuran, penentuan kereaktifan pemurnian, penentuan kondisi yang sesuai untuk pemisahan pada kromatografi kolom, dan memonitor kromatografi kolom (Iskandar, 2007).

2. Kromatografi Kolom (KK)

Prinsip dasar kromatografi kolom adalah suatu pemisahan yang dapat dilakukan berdasarkan pola distribusi dalam fasa gerak dan fasa diam dengan meletakkan sampel-sampel dan pelarut pada ujung atas kolom. Kelebihan dalam kromatografi kolom adalah dapat menentukan jumlah komponen campuran untuk pemisahan pemurnian, murah dan mudah karena alat yang sederhana.

#### **2.14 *Fourier Transform Infrared (FTIR)***

*Fourier Transform Infrared (FTIR)* adalah salah satunya teknik analisis yang dapat digunakan untuk mengkarakterisasi sampel sehingga menghasilkan gugus fungsi (Fan *et al.*, 2012). Dalam prosedur analisis FTIR, sampel terkena kontak dengan inframerah (IR) radiasi. Radiasi IR kemudian memiliki dampak pada getaran atom molekul dalam sampel yang menghasilkan penyerapan dan/atau transmisi energi. Hal ini membuat FTIR berguna untuk menentukan getaran molekul tertentu yang terkandung dalam sampel (Nandiyanto *et al.*, 2019). Data interpretasi spektrum inframerah dapat dilihat pada **Tabel 1**.

**Tabel 1** Tabel Serapan FTIR Senyawa Alkaloid (Aksara dkk, 2013)

Jenis Vibrasi	Bilangan Gelombang (cm-1)
OH ulur	3200-2700
N-H ulur	3300-3500
C=O ulur	2700-1725
C-H alifatik	2850-2950
C-H aromatic tekuk	1300-1475
N-C=O	570-630
C-O (C-O-C) ulur	1077-1082
C-N ulur	1300-900

### 2.15 High Throughput Screening Assay (HTS Assay)

Berbagai skrining throughput tinggi metode telah dikembangkan untuk menyaring aktivitas antijamur. Kjeldgaard *et al.*, (2021) mengembangkan dua metode throughput tinggi untuk skrining antijamur. Metode pertama adalah layar berbasis agar-agar di 48-sumur pelat mikrotiter yang bergantung pada penilaian visual masing-masing sumur. Metode kedua menggunakan media kaldu cair dan menggunakan pembacaan spektroskopi pada 630nm untuk mengukur pertumbuhan jamur.

Metode skrining throughput tinggi lainnya yang dikembangkan oleh Inglin *et al.*, (2015) untuk deteksi aktivitas antijamur oleh *Lactobacillus spp.* juga mengandalkan visual penilaian. Garnier *et al.*, (2018) juga mempelajari aktivitas antijamur LAB dengan penilaian visual penghambatan jamur pada matriks meniru keju. Pemutaran throughput tinggi dapat digunakan sebagai penentuan awal yang kandidat penghambat jamur harus ditindaklanjuti dengan eksperimen in vivo. Ini membantu mengurangi penyaringan in vivo dengan memilih hanya konsentrasi/kombinasi inhibitor yang menunjukkan potensi dengan in vitro eksperimen.

## 2.16 KLT Bioautografi

Uji KLT-bioautografi dilakukan pemantauan spot sampel pada KLT untuk mengidentifikasi senyawa yang terdapat dalam kromatogram hasil elusi yang memiliki aktivitas antimikroba dengan melihat perubahan warna bercak spot pada Kromatogram Lapis Tipis (Paramita dkk., 2018). Dasar KLT-bioautografi adalah teknik difusi agar, dimana senyawa antimikroba berpindah dari plat KLT ke medium agar yang telah mengandung bakteri atau jamur. Metode difusi agar merupakan metode yang cepat dan sederhana. Hasil dari pengujian dengan metode ini adalah terbentuknya zona bening disekitar tempelan Kromatografi Lapis Tipis yang telah dielusi. Zona bening menunjukkan ekstrak yang diuji memiliki aktivitas antimikroba yang menyebabkan mikroba uji tidak dapat tumbuh. Semakin besar diameter zona bening yang dihasilkan, maka semakin tinggi aktivitas zat uji tersebut. (Widayat dkk, 2015).



**Gambar 8.** KLT Bioautografi Terhadap Aktivitas Antijamur (Widayat dkk, 2015).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober 2022 sampai Juni 2023 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi (UPT-LTSIT) dan Laboratorium Biopolimer, Fakultas MIPA, Universitas Lampung. Analisis *Light Microscopy*, *Scanning Electron Microscopy* (SEM), dan *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FTIR) dilakukan di UPT LTSIT Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas diantaranya gelas kimia, pipet tetes, erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, cawan petri, batang pengaduk, mikropipet, pinset, gunting, botol kaca, *cutter*, *loop ose*, *cover glass*, oven, lampu spiritus, *hot plate*, *cottonbud*, spatula logam, karet gelang, spidol, *autoclave* Tomy SX-700, neraca analitik Wigen Houser, Rotary Evaporator Buchii/R210, Laminar air flow, Incubator Memmert-Germany/INC-02, Mikroskop Axio Imager *with* ApoTome 2 Zeiss Z2, corong pisah, Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam alumunium silica gel DC kielsel 60 F<sub>254</sub>, lampu UV Kohler/SN402006, serta kolom kromatografi, *Scanning Electron Microscopy* (SEM) Merk EVO 10, dan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) (Cary 630).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah kulit udang, akuades, HCl pekat teknis, NaOH teknis, NaCl teknis, agar *swallow*, kentang

segar, glukosa, alcohol teknis, dimetil sulfoksida (DMSO), methanol (MeOH) *pro analysis*, ketokonazol, etil asetat (EtOAc) *pro analysis*, *n*-heksana teknis, koloid kitin, air laut buatan (*Artificial Sea WaterI*), silika gel 60 Kromatografi Kolom Terbuka (0,063-0,00 mm, Merck KgaA, Darmstadt, Jerman), reagen visualisasi KLT meliputi serium sulfat ( $Ce(SO_4)_2$ ) (Ce(IV) dan  $H_2SO_4$  dalam akuades), dragendorff (Larutan 1: bismut nitrat dengan air dan asam asetat glasial; Larutan 2: larutan KI dengan asam asetat glasial), *Potato Dextrose Agar* (PDA), malt, *yeast extract Mueller Hinton Agar* (MHA).

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Peremajaan

Pada penelitian ini 6 isolat aktinomisetes diperoleh dari deposit UPT LTSIT yang telah diisolasi dari Perairan Oluhuta, Teluk Tomini, Gorontalo ( $0^{\circ}25'11.9''N123^{\circ}08'31.8''E$ ) pada tahun 2019 (Setiawan *et al.*, 2022) dan Perairan Buleleng, Bali ( $07^{\circ}20.9'' LS 114^{\circ}34'03.8'' BT$ ) pada tahun 2018 meliputi *sponge* dan *tunicate* (Widyastuti *et al.*, 2022). Isolat aktinomisetes asosiasi Perairan Gorontalo (kode sampel 19A07A1, 19B19A1, dan 19C38A1) dan isolat aktinomisetes asosiasi Perairan Bali (kode sampel 18A13O1, 18D36A1, dan 18D36A2) diremajakan dengan media 1% koloid kitin agar dalam *Artificial Sea Water* (ASW) dari acuan (Hsu and Lockwood, 1975) yang telah dimodifikasi menggunakan NaCl dan air lalu dilarutkan sesuai dengan ukuran 30ppt salinitas kemudian disaring menggunakan tisu dan kapas. Untuk mikroorganisme jamur patogen *Malassezia globosa* didapat dari Laboratorium Parasitologi, Universitas Indonesia yang diremajakan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA).

#### 3.3.2 Kultivasi dan Ekstraksi

Kultivasi dilakukan pada dua media yaitu media standar *International Streptomyces Project medium 2* (ISP-2) dan media selektif kulit udang sebagai

media penghasil ekstrak kasar yang mengandung senyawa bioaktif dari aktinomisetes terhadap aktivitas pertumbuhan jamur.

### **3.3.2.1 Submerged Fermentation (SmF)**

Pertumbuhan isolat aktinomisetes dilakukan menggunakan fermentasi media *International Streptomyces Project (ISP-2)* mengacu pada (Al-Ansari *et al.*, 2020). Pertama, isolat aktinomisetes dari Perairan Gorontalo dan Perairan Bali yang dipilih ditumbuhkan pada 20 mL media kultur ISP-2 (1% malt, 0,4% glukosa, dan 0,4% *yeast extract* dengan 100ml air laut buatan 30ppt yang steril) pada 100ml erlenmeyer. Selanjutnya inokulum diinkubasi selama 7 hari. Kultur primer kemudian dituangkan dan diinokulasikan dengan volume inokulum primer (1:5 rasio) dalam media *International Streptomyces Project medium 2 (ISP2)* 2000ml erlenmeyer. Setelah itu dibiarkan proses pengkulturan dengan inkubasi selama 14 hari. Setelah selesai inkubasi, senyawa metabolit sekunder yang didapat ditambahkan volume yang sama (1:1 rasio) etil asetat sebagai pelarut kemudian didiamkan selama 24 jam dan disaring untuk mendapatkan filtrat dan aktinomisetes. Filtrat yang didapat kemudian dilakukan pemisahan secara partisi. Etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan dengan menguapkan pelarut dalam *rotary evaporator* pada tekanan 98 mbar, temperatur 40 °C.

### **3.3.2.2 Solid State Fermentation (SSF)**

Tahapan fermentasi padat isolat terpilih dilakukan mengacu pada metode Setiawan *et al.*, (2022). Mula-mula isolat diinokulasikan pada 30 mL wadah botol kaca media 1% koloid kitin cair dan diinkubasi selama 7 hari. Selanjutnya inokulum dituang ke dalam 150 g limbah cangkang udang steril dalam erlenmeyer 2000 mL dan diinkubasi selama 14 hari. Pemisahan ekstraksi senyawa dilakukan dengan proses maserasi selama 24 jam menggunakan etil asetat lalu disaring dan didapatkan filtrat etil asetat. Filtrat tersebut kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada tekanan 98 mbar, temperatur 40 °C.

### 3.3.3 Skrining Aktivitas Antifungi

Metode *High Throughput Screening Assay* (HTS Assay) dilakukan untuk menentukan aktivitas antijamur menggunakan wadah (sumur) *96-well plate* yang absorbansinya diukur menggunakan pembaca pelat Hospitex di OD630 nm. Jamur berumur 1-2 hari dikultur pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Persiapan sampel 6 isolat aktinomisetes dimasukkan ke dalam *microtube* dan diuapkan. Kemudian *microtube* ditimbang agar dapat dihitung pengenceran dengan penambahan 2% DMSO.

Setelah disiapkan sampel kemudian dilakukan uji skrining untuk mendapatkan 1 sampel hasil isolat unggul dari 6 sampel isolat aktinomisetes. Spora dipanen menggunakan jarum ose, lalu digoreskan dalam tabung vial 15ml yang berisi inokulum 10 mL media *Potato Dextrose Broth* (PDB). Tabung didiamkan untuk dapat di cek kekeruhan standar Mc. Farland (OD630nm= 0,08–0,1). Semua ekstrak dibuat untuk 10 mg/mL larutan stok. Ketoconazol digunakan sebagai kontrol positif, 2% DMSO digunakan sebagai kontrol negatif, dan sumur tanpa jamur digunakan sebagai kontrol kontaminasi. Setiap sumur berisi 80µL media PDB, 100µL suspensi jamur, dan 20µL larutan ekstrak. *Plate* diinkubasi selama 48 jam pada temperatur kamar. % inhibisi diukur dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\bar{X} \text{ blanko} - \bar{X} \text{ sampel}}{\bar{X} \text{ blanko}} \times 100\%$$

(Setiawan *et al.*, 2022).

### 3.3.4 Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Ekstrak kasar dari isolat yang aktif sebagai antifungi kemudian dianalisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Analisis dilakukan dengan menggunakan fase diam alumunium silica gel DC kielsel 60 F<sub>254</sub> dan fasa gerak n-heksana: EtOAc (10: 1). Hasil penotolan yang telah dielusi, kemudian diidentifikasi menggunakan UV 254nm untuk mengetahui senyawa ikatan rangkap terkonjugasi. Kemudian diidentifikasi uji visualisasi dengan reagen serium sulfat (CeSO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> untuk memvisualisasikan senyawa organik dan reagen

dragendorff untuk mengetahui senyawa bioaktif mengandung alkaloid sesuai spot (bercak) yang didapat.

### 3.3.5 Identifikasi Morfologi Isolat Unggul

Identifikasi morfologi isolat unggul secara mikroskopik dilakukan dengan menggunakan metode *cover slip* 45° pada media 1% koloid kitin agar yang kemudian dianalisis menggunakan mikroskop. Pertama, *cover slip* steril yang bersih ditanam pada kemiringan 45° dalam cawan petri agar dan dikultur selama 7 hari. *Cover slip* diangkat menggunakan pinset dan ditempatkan pada slide kaca yang bersih. Lalu diamati di bawah Zeiss Axio Imager Microscope with ApoTome 2 Zeiss Z2 untuk diamati bentuk miselium substrat pada media koloid kitin yang dimodifikasi pada temperatur kamar selama 14 hari (Rendowaty dkk., 2017). Lalu dianalisis lebih lanjut menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) yang mengacu pada Widyastuti *et al.*, (2022) untuk diamati berdasarkan bentuk miselium spora dan warna ornamen spora.

### 3.3.6 Karakterisasi Senyawa Bioaktif Menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR)

Untuk melihat gugus fungsi senyawa bioaktif dilakukan karakterisasi menggunakan FTIR. Gugus fungsi yang ada dalam ekstrak kasar dikarakterisasi pada kisaran 400-4000  $cm^{-1}$  dalam cakram KBr menggunakan spektroskopi inframerah *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Cary 630 (Agilent, Santa Clara, CA, United States) di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi (UPT-LTSIT) Fakultas MIPA, Universitas Lampung (Balachandar *et al.*, 2018).

### 3.3.7 Kultivasi Skala Besar Isolat Unggul dan Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Kultivasi skala besar dilakukan sepuluh kali lipat lebih banyak daripada kultivasi pada dua media tumbuh sebelumnya. Perlakuan kultivasi skala besar untuk memperbanyak hasil ekstrak kasar isolat unggul yang akan dilakukan pengujian dan tahapan selanjutnya. Kultur yang didapat kemudian diekstraksi menjadi filtrat yang mengandung isolat unggul lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada tekanan 98 mbar, temperatur 40 °C.

### 3.3.8 Pemurnian Senyawa

Berdasarkan dari acuan (Silaa dkk, 2019) dengan sedikit modifikasi bahwa ekstrak kasar yang didapat dari perbesaran jumlah kultur kemudian dimurnikan dengan menggunakan metode kromatografi kolom untuk mendapatkan senyawa yang murni. Tahap pertama kromatografi kolom adalah mempersiapkan media kolom kromatografi dengan dimasukkan kapas berukuran kecil yang diletakkan di bawah media kolom agar silika gel 60 tidak keluar dari kolom. Silika gel 60 dimasukkan ke dalam kolom kromatografi sebagai fase diam dan n-heksana sebagai fase gerak. Silika gel 60 di dalam kolom kromatografi dibasahi dengan n-heksana dan dipadatkan kemudian ekstrak kasar isolat unggul dalam pelarut organik dimasukkan pada permukaan kolom kromatografi menggunakan pipet tetes. Selama pemisahan berlangsung silika gel 60 diperlakukan secara basah/lembab dengan pelarut organik ekstrak isolat unggul menggunakan perbandingan yang berbeda. Hasil pemisahan tersebut dikumpulkan pada botol vial yang membentuk beberapa fraksi. Tahapan lebih lanjut dilakukan analisis kromatografi lapis tipis untuk menentukan komponen senyawa bioaktif serta untuk mendapatkan fraksi murni yang dapat berperan sebagai agen antijamur dilakukan uji KLT-Bioautografi.

### 3.3.9 Uji KLT-Bioautografi Metode Difusi Agar

Uji aktivitas antijamur terhadap *Malassezia globosa* dilakukan tahapan uji KLT-Bioautografi isolat unggul dengan sedikit modifikasi yang mengacu pada metode Papatungon dkk, (2019). Untuk uji KLT-Bioautografi, media *Potato Dextrose Agar* (PDA) disiapkan sebagai tempat pembiakan jamur *Malassezia globosa*. Setelah itu dibuat inokulum jamur pada media PDB hingga kekeruhan mencapai McFarland dengan masa inkubasi selama 24 jam. Kemudian totalan fraksi dari hasil pemisahan senyawa secara kromatografi kolom di elusi menggunakan eluen n-heksana: EtOAc (10:1) pada pelat KLT. Media PDA yang telah memadat didalam cawan petri dan telah digores inokulum jamur kemudian di atasnya diletakkan pelat KLT dalam posisi menempel pada media PDA. Setelah itu didiamkan selama 60 menit didalam *refrigerator* untuk dilakukan proses difusi. Pelat KLT kemudian diambil dan dikeluarkan dari media lalu diinkubasi selama 24 jam. Uji positif kemurnian fraksi senyawa bioaktif pada aktivitas inhibisi terhadap *Malassezia globosa* menunjukkan adanya totalan *spot* yang sesuai dengan pola KLT.

## V. SIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh simpulan sebagai berikut:

1. Supernatan ekstrak kultur isolat aktinomisetes 19B19A1 pada media kulit udang memiliki potensi sebagai antifungi.
2. Supernatan ekstrak kultur isolat 19B19A1 media kultur padat kulit udang mampu menghambat dengan nilai inhibisi sebesar 30% pada konsentrasi 1mg/mL variasi waktu 48 jam.
3. Berdasarkan karakteristik FTIR didapatkan bahwa isolat 19B19A1 menghasilkan sebagai senyawa alkaloid.
4. Isolat aktinomisetes 19B19A1 terindikasi sementara sebagai *Streptomyces* berdasarkan bentuk, ukuran, dan warna spora.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, penulis memberikan beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut terkait kepolaran isolat dan penentuan struktur dengan menggunakan LCMS-MS.
2. Perlu dilakukan filogenetik pada isolat 19B19A1 untuk menentukan jenis genus aktinomisetes.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdul, J. A., Posangi, J., Wowor, P. M., dan Bara, R. A. 2020. Uji Efek Daya Hambat Jamur Endofit Rimpang Jahe (*Zingiber Officinale Rosc*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* Dan *Escherichia Coli*. *Jurnal Biomedik*. 12(2), 88-93.
- Aksara, R., Musa, W.J., dan Alio, L. 2013. Identifikasi Senyawa Alkaloid Dari Ekstrak Metanol Kulit Batang Mangga (*Mangifera indica L*). *Jurnal Entropi*. 8(1). 514-519.
- Al-Ansari, M.M., Kalaiyarasi, M., Almalki, M.A., and Vijayaraghavan, P. 2020. Optimization Of Medium Components for The Production of Antimicrobial and Anticancer Secondary Metabolites from *Streptomyces*. AS11 Isolated from The Marine Environment. *Journal of King Saud University Science*. 32, 1993-1998.
- Ali, A. 2009. Skrining dan karakterisasi parsial senyawa antifungi dari actinomycetes asal limbah padat sagu terdekomposisi. *Berkala Penelitian Hayati*. 14(2), 219-255.
- Amir, I. dan A. Budiyanto. 1996. Mengenal *Sponge Laut (Demospongiae)* Secara Umum. *Oseana*. 21(1): 15-31.
- Balachandar, R., Karmegam, N., Saravanan, M., Subbaiya, R., and Gurumoorthy, P. 2018. Synthesis Of Bioactive Compounds from Vermicast Isolated Actinomycetes Species and Its Antimicrobial Activity Against Human Pathogenic Bacteria. *Microbial pathogenesis*. 121, 155-165.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., and van Wezel, G. P. 2016. Taxonomy, Physiology, And Natural Products of Actinobacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 80(1), 1-43.
- Capon, R.J. 2010. Marine Natural Product Chemistry: Past, Present, and Future. *Aust. J. Chem*. 63, 851–854.

- Chaiharn, M., Theantana, T., and Pathom-Aree, W. 2020. Evaluation of Biocontrol Activities of *Streptomyces* spp. Against Rice Blast Disease Fungi. *Pathogens*. 9(2), 126.
- Cahyono, E. 2018. Karakteristik Kitosan Dari Limbah Cangkang Udang Windu (*Panaeus monodon*). *Perairan Indonesia*. 3(2): 96-102.
- Chowdhury A, Alam MA, Rahman MS, Hossain MA, and Rashid MA. 2009. Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Citrus Hystrix DC. Fruits. *Dhaka Un J Pharm Sci*. 8(2): 177-180.
- Das. S., Lyla, P.S., and S. Ajmal Khan. 2006. Marine Microbial Diversity and Ecology: Importance and Future Perspective. *Current Science*. 90(10): 1325- 1335.
- Dhanasekaran, D., and Jiang, Y. 2016. *Actinobacteria: Basics and Biotechnological Applications*. BoD–Books on Demand.
- Duan, S., Lei, L., Zejnan, Z., Wenya, W., Shuying, H., and Jienhua, Z. 2012. Improved Production of Chitin from Shrimp Waste by Fermentation with Epiphytic Lactic Acid Bacteria. *Carbohydr. Polym*. 89: 1283- 1288.
- Duya, Novia dan Rista Noveria. 2019. Jenis-Jenis Crustacea Di Cagar Alam Teluk Klowe Pulau Enggano Kabupaten Bengkulu Utara. *Jurnal Konservasi Hayati*. 10(1): 16-22.
- Ehemann, K., Mantilla, M. J., Mora-Restrepo, F., Rios-Navarro, A., Torres, M., and Celis Ramírez, A. M. 2022. Many Ways, One Microorganism: Several Approaches to Study *Malassezia* in Interactions with Model Hosts. *Plos Pathogens*. 18(9), e1010784.
- Fan, M., Dai, D., and Huang, B. 2012. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Natural Fibres*. Fourier Transform – Materials Analysis. Chinafitrya.
- Fardiyanti, R., Kasrina, K., dan Bustamam, H. 2021. Ragam Jenis *Streptomyces* Pada Rizosfer Tanaman Suku Liliacea Di Kawasan Desa Sumber Bening. *Konservasi Hayati*. 17(1), 29-34.
- Franklin, T. J. and G. A. Snow. 2005. *Biochemistry and Molecular Biology of Antimicrobial Drug Action, 6th Edition*. Spinger Science and Business Media, Inc. England.
- Garnier, L., Salas, M. L., Pinon, N., Wiernasz, N., Pawtowski, A., Coton, E., Mounier, J., and Valence, F. 2018. Technical Note: High-Throughput

- Method for Antifungal Activity Screening in A Cheese-Mimicking Model. *Journal of Dairy Science*. 101(6): 4971–4976.
- Grasso, L.L., Martino, D.C., and Alduina, R. 2016. Production of antibacterial compounds from Actinomycetes. In *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*; Dhanasekaran, D., Jiang, Y., Eds.; InTech: Rijeka, Croatia. Ch. 07.
- Hanif, N., Murni, A., Tanaka C., and Tanaka J. 2019. Marine Natural Products from Indonesian Waters. *Marine Drugs*, 17(6):364.
- Harborne, A. J. 1998. *Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Springer. New York.
- Hasibuan, P. A., dan Nainggolan, M. 2007. Penentuan Sifat Kimia Fisika Senyawa Alkaloid Hasil Isolasi dari Daun Bandotan (*Ageratum conyzoides* Linn.). *Jurnal Penelitian MIPA*. 1(1), 20-22.
- Hayati, Inayah. 2014. *Identifikasi Jamur Malassezia furfur Pada Nelayan Penderita Penyakit Kulit di RT 09 Kelurahan Malabro*. Kota Bengkulu.
- Hendri, John., dan Aspita Laila. 2013. *Kitin Kitosan*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Hoek Franklyn, Muhfizar, Silvester Simau, Amir M. SuruwakyM. Ali Ulat, dan Arhandy Arfah. 2015. Potensi Sumberdaya Udang Penaeid di Perairan Kepulauan Aru Bagian Timur Sub Wilayah Aru Dan Sekitarnya-III. *Jurnal Airaha*. 4(1): 18.
- Hsu, S.C and Lockwood, J.L. 1975. Powdreed Chitin Agar as A Selective Medium for Enumeration of Actinomycetes in Water and Soil. *Applied Microbiology*. 29(3): 422-426.
- Inglin, R. C., Stevens, M., Meile, L., Lacroix, C., and Meile, L. 2015. High-Throughput Screening Assays for Antibacterial and Antifungal Activities of Lactobacillus Species. *Journal of Microbiological Methods*. 114, 26-29.
- Iskandar, Yusuf. 2007. *Karakteristik Zat Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Bunga Krisan (Chrysanthemum cinerariaefolium) Sebagai Bahan Pembuatan Biopestisida*. FMIPA. Semarang.
- Itsa, N. S., Sukohar, A., Anggraini, D. I., Kedokteran, F., Lampung, U., Kedokteran, F., Lampung, U., Ilmu, B., Kulit, K., Kedokteran, F., dan Lampung, U. 2018. Pemanfaatan Cuka Sari Apel Sebagai Terapi Antifungi Terhadap Infeksi *Candida albicans* (Kandidiasis) *Utilization of Apple Cider Vinegar as An Antifungal Therapy on Candida albicans Infection (Candidiasis)*. 290–295.

- Janusz, G., Czuryło, A., Fra, c, M., Rola, B., Sulej, J., Pawlik, A., et al. 2015. Laccase production and metabolic diversity among *Flammulina velutipes* strains. *World J. Microb. Biot.* 31, 121–133.
- Kemenkes Republik Indonesia. 2013. *Riset Kesehatan Dasar*. RISKESDAS, Balitbang Kemenkes RI. Jakarta.
- Khalifa, H.O., Majima, H., Watanabe, A., and Kamei, K. 2021. In Vitro Characterization of Twenty-One Antifungal Combinations against Echinocandin-Resistant and -Susceptible *Candida glabrata*. *Journal of Fungi*, 7.
- Kjeldgaard, B., Neves, A. R., Fonseca, C., Kovács, and Á. T., Domínguez-Cuevas, P. 2021. Development of Quantitative High-Throughput Screening Methods for Identification of Antifungal Biocontrol Strains. *bioRxiv*.
- Lasabuda, Ridwan. 2013. Pembangunan Wilayah Pesisir Dan Lautan Dalam Perspektif Negara Kepulauan Republik Indonesia. *Jurnal Ilmiah Platax*. 1(2):92- 101.
- Lestari, D., Djajaningrat, H., dan Haryadi, H. 2021. Peningkatan Kemandirian Lansia Dalam Pencegahan Penyakit Kulit (*Tinea Versicolor*) Melalui Penyuluhan Dan Pemeriksaan Jamur Kulit (*Malassezia Furfur*). *Prosiding Diseminasi Hasil Pengabdian Kepada Masyarakat*. 164-171.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y. and Jiang, C. 2016. *Morphological Identification of Actinobacteria*. In: *Actinobacteria-Basics and Biotechnological Applications*. IntechOpen. London.
- Luthfi, M. A. 2021. Ketombe.  
<https://health.kompas.com/penyakit/read/2021/10/03/100000868/ketombe>.  
Diakses pada 18 Agustus 2022.
- Madjowa, V., Olii, A.H., and Baruadi, A.S.R., 2020. Gorontalo Fishermen Knowledge Studies Related to Astronomy and the Movement of Fish in Tomini Bay. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*. 6(2) 41-49.
- Marganov. 2003. *Potensi Limbah Udang Sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan*. Laporan. IPB Bogor.
- Marzuki, I. 2018. *Eksplorasi Spons Indonesia*. Penerbit Nas Media Pustaka. Makassar.

- Mas Min. 2023. Daftar Nama Laut di Indonesia Berdasarkan Letaknya.  
<https://www.pelajaran.co.id/daftar-nama-laut-di-indonesia-berdasarkan-letaknya/>. Diakses pada 02 Februari 2023.
- Mitchell, D. A. and B.K. Lonsane. 1990. *Definition, characterization and economic evaluation, in: H.W. Doelle, C. Rolz (Eds.). General Principles of Solid Substrate Fermentation*, Rapid Publications of Oxford Ltd., UK.
- MP Segreth, A. Bonnefoy, M. Bronstrup, M. Kanuf, D. Schummer, L. Toti. 2003. Conisetin a Novel Tetramic dari *Coniochaeta ellipsoidea* DSM 13856. *Jurnal Antibiotik*. 56, 112e114.
- Nandiyanto, A.B., Oktiani, R., and Ragadhita, R. 2019. How to Read and Interpret FTIR Spectroscopy of Organic Material. *Indonesian Journal of Science and Technology*. 4(1): 97-118.
- Nigam.P and A. Pandey. 2009. *Bioteknologi untuk Pemanfaatan Residu Agro-Industri*. Springer Science. Belanda. ISBN 978-1-4020-9941-0, hlm. 466
- Ningrum, R.F., Sipriyadi, S., dan Nursa'adah, E. 2021. Potensi Pemanfaatan Kulit Buah Kabau (*Archidendron bubalinum*) sebagai Antifungi *Candida albicans* ATCC 10231. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*. 9(2): 115-120.
- Nodwell, J.R. 2017. Antimicrobials: Expressing Antibiotic Gene Clusters. *Nat. Microbiol.* 2, 17061.
- Octaviani, M. O., Maulana, I. T., dan Syafnir, L. 2020. Telaah Golongan Senyawa Antijamur *Candida Albicans* dari Ekstrak Bertingkat Alga Merah (*Eucheuma Spinosum*) Menggunakan KLT Bioautografi. *Prosiding Farmasi*. 13-19.
- Olivia, F., Alam, S., Hadibroto, I., 2004. *Seluk Beluk Food Suplemen*, 49. PT Gramedia, Jakarta.
- Oskay, M., Tamer, A.U., and Azeri, C. 2004. Antibacterial Activity of Some Actinomycetes Isolated from Farming Soils of Turkey. *Afric. J. of Biotech.* 3 (9): 441-446
- Pandey. A., C.R. Soccol, and D.A. Mitchell. 2000. New Developments in Solid-State Fermentation. I. *Bioprocesses and products, Process Biochem.* 35 (10): 1153–1169.
- Paputungan, W. A., Lolo, W. A., dan Siampa, J. P. 2019. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Klt-Bioautografi Dari Fraksi Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora* Pierre Ex A. Froehner). *Pharmacon*. 8(3), 516-524.

- Paramita Swandari, Yadi Yasir, Yuniati Yuniati, dan Ibnu Sina. 2018. Analisis Bioautografi Kromatografi Lapis Tipis Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bawang Tiwai (*Eleutherine Bulbosa (Mill.) Urb.*) Terhadap Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*. 1(9), 470-478.
- Pasquetti, M., Chiavassa, E., Tizzani, P., Danesi, P., and Peano, A. 2015. Agar Diffusion Procedures for Susceptibility Testing of *Malasseziapachydermatis*: Evaluation of Mueller-Hinton Agar Plus 2 % Glucose and 0.5 µg/ml Methylene Blue as the Test Medium. *Mycopathologia*. 180, 153-158.
- Payangan, G.E. 2018. Uji Aktivitas Antimikroba Jamur Laut Yang Berasosiasi Dengan Spons Phyllospongia lamellose. *Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT*. 7(3): 266-275.
- Prasetia, I.N. 2015. Struktur Komunitas Terumbu Karang di Pesisir Kecamatan Buleleng Singaraja. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 4(2): 579-590.
- Prete, S.del, De Luca, V., Vullo, D., Osman, S.M., Alothman, Z.A., Carginale, V., Supuran, C.T., and Capasso, C. 2016. A New Procedure for The Cloning, Expression and Purification of The  $\beta$ -Carbonic Anhydrase from The Pathogenic Yeast *Malassezia globosa*, An Anti-Dandruff Drug Target. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. 31. 1156 - 1161.
- Queendy, V., dan Roza, R. M. 2019. Aktivitas Antifungi Isolat Aktinomisetes Arboretum Universitas Riau Terhadap Jamur *Fusarium Oxysporum* F. Sp *Lycopersici* Dan *Ganoderma Boninense*. *AL-KAUNIYAH: Journal of Biology*. 12(1): 73-88.
- Rahayu, Slamet Mardiyanto, Wiryanto, dan Sunarto. 2017. Keanekaragaman Jenis *Krustasea* Di Kawasan Mangrove Kabupaten Purworejo, Jawa Tengah. *Jurnal Sains Dasar*. 6(1): 57-65.
- Ratnakomala, S., Apriliana, P., Fahrurrozi, F., Lisdiyanti, P., dan Kusharyoto, W. 2017. Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes Laut Dari Pulau Enggano. *Berita Biologi*. 15(3), 275-283.
- Rendowaty, Agnes, Akmal Djamaan, dan Dian Handayani. 2017. Waktu Kultivasi Optimal dan Aktivitas Antifungi dari Ekstrak Etil Asetat *Fungi Symbion Aspergillus unguis* (WR8) dengan *Haliclona fascigera*. *Jurnal Sains Farmasi dan Klinis*. 4(2): 49-54.
- Rudramurthy SM, Honnavar P, Dogra PS, Yegneswaran PP, Handa S, Chakrabarti A. 2014. Association Of *Malassezia* Species with Dandruff. *Indian J Med Res*. 13 (9): 431-437.

- Samudin, M.T., and Mamar, S. 2019. Patterns of the Social Economic Society of Fishermen Communities in Bantaya Village, Parigi Moutong District, Indonesia. *International Journal of Humanities, Social Sciences and Education*. 6 (9): 126-133.
- Sarwono, R. 2010. Pemanfaatan Kitin/Kitosan Sebagai Bahan Anti Mikroba. *JKTI*. 12(1): 32-38.
- Schwartz JR, Messenger AG, Tosti A, Todd G, Hordinsky M, Hay RJ, Wang X, Zachariae C, Kerr KM, Henry JP, Rust RC, and Robinson MK. 2012. A Comprehensive Pathophysiology of Dandruff and Seborrheicdermatitis – Towards A More Precise Definition of Scalp Health. *ActaDermVenereol*. 92: 1-10.
- Setiawan A, Setiawan F, Juliasih NLGR, Widyastuti W, Laila A, Setiawan WA, Djailani FM, Mulyono M, Hendri J, Arai M. 2022. Fungicide Activity of Culture Extract from *Kocuria palustris* 19C38A1 against *Fusarium oxysporum*. *Fermentation*, 8:280.
- Silaa, A. E., Paransa, D. S., Rumengan, A. P., Kemer, K., Rumampuk, N. D., dan Manoppo, H. 2019. Pemisahan Jenis Pigmen Karotenoid Dari Kepiting Grapsus Sp Jantan Menggunakan Metode Kromatografi Kolom. *Jurnal Pesisir dan Laut Tropis*. 7(2), 121-128.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., and Kiemle, D. J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. 7th edition. State University of New York. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Subramani, G., Xin, Y.Y., and Sivasamugham, L.A. 2020. Antibacterial Activity of *Cymbopogon citratus* Against Clinically Important Bacteria, South African. *Journal of Chemical Engineering*. 34: 26–30.
- Sukma, D. 2016. *Sehat Tanpa Obat Dengan Bawang Merah Dan Bawang Putih*. Rapha Publishing. Yogyakarta.
- Syarifuddin, A., dan Sulistyani, N. 2019. Karakterisasi fraksi aktif senyawa antibiotik isolat kp 13 dengan metode densitometri dan KLT-spray. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 4(1), 156-166.
- Tuli, M., Mennofatria Boer, dan Luky Adrianto. 2019. Analisis Sumberdaya Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis*) di Perairan Kabupaten Pohuwato, Provinsi Gorontalo. *ARTIKEL*. 1(3454).
- Vifta, R. L., Khotimah, S. K., dan Luhurningtyas, F. P. 2018. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Biji Timun Suri (*Cucumis Melo L.*) Terhadap

Pertumbuhan *Candida Albicans* Secara In Vitro. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*. 1(1).

Widayat Wahyu, Nisa Naspiah, dan Arsyik Ibrahim. 2015. Aktivitas Ekstrak Temu Kunci (*Boersenbergia Pandurata Roxb. Schlecht.*) Terhadap Jamur Penyebab Pitiriasis Versikolor (*Malassezia Sp. Malassezia globosa & Malassezia Furfur*). *Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-2*. 183-190.

Widowati, P. D., Zalfani, Q. R., Lestari, A. V., Syahbana, S. N., Putri, N. R. A., Sena, R. Y., Wulandari, D. A. B., Prabansari, A. K., Fajrin, N. G., dan Sukorini, A. I. 2020. Identifikasi Pengetahuan Dan Penggunaan Produk Antiketombe Pada Mahasiswa Upn Veteran Surabaya. *Jurnal Farmasi Komunitas*. 7(1), 31

Widyastuti, W., Setiawan, F., Al Afandy, C., Irawan, A., Laila, A., Juliasih, N. L. G. R., ... and Setiawan, A. 2022. Antifungal Agent Chitooligosaccharides Derived from Solid-State Fermentation of Shrimp Shell Waste by *Pseudonocardia antitumoralis* 18D36-A1. *Fermentation*. 8(8), 353.

Yudasmara, G.A. 2016. Pengelolaan Kawasan Pesisir Kabupaten Buleleng Melalui Pengembangan Mina Wisata Bahari (Management Of Buleleng Coastal Areas Through The Marine Fisheries Tourism Development). *Jurnal Manusia Dan Lingkungan*. 23(3): 381-389.

Yusuf, M. H. S. P., Pani, S., dan Kumaji, S. S. 2020. Pengaruh Ekstrak Daun Ketepeng Cina (*Cassia Alata L.*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Malassezia Furfur* Penyebab Ketombe. *Journal of Health, Technology and Science (JHTS)*. 1(1), 11-17.

Younes, Islem and Marguerite Rinaudo. 2015. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources, Structure, Properties and Application. *Marine Drugs*. 13: 1133-1174.