

**KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA KITOSAN DAN
EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF DARI ISOLAT *FUNGI* ENDOFIT**

(Skripsi)

Oleh

**Wahidatun Nur Khasanah
NPM 1917011002**



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

ABSTRAK

KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA KITOSAN DAN EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF DARI ISOLAT *FUNGI* ENDOFIT

Oleh

Wahidatun Nur Khasanah

Produksi kitosan dari sumber *fungi* telah mendapat perhatian yang meningkat dalam beberapa tahun terakhir. Pada penelitian ini 4 isolat *fungi* dikultivasi pada media *Malt Extract* dan *Potato Dextrose Broth* (PDB) selama 14 hari yang kemudian diekstraksi dan discreening. Berdasarkan hasil *screening*, isolat *fungi* 19A15-RF pada media PDB diperoleh sebagai isolat unggul penghasil kitosan dan ekstrak senyawa bioaktif sebagai agen antimikroba. Identifikasi morfologi isolat 19A15-RF diindikasikan sebagai genus *Aspergillus*. *Scale up* 5 L pada media PDB menghasilkan total rendemen kitosan sebesar 11,125%. Berdasarkan hasil uji antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* serta antifungi terhadap *Malassezia globosa*, kitosan dan ekstrak isolat 19A15-RF memiliki potensi sebagai agen antimikroba pada dosis 0,5 mg/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa *fungi* endofit yang berasal dari organisme laut terkait dengan strain 19A15-RF, belum banyak diketahui sebagai sumber antimikroba. Informasi awal ini penting, karena dapat digunakan sebagai dasar untuk pengembangan lebih lanjut dalam pencarian antimikroba yang berasal dari *fungi* endofit yang berasosiasi dengan organisme laut.

Kata Kunci : *Fungi*, Kitosan, Senyawa Metabolit, Antimikroba, dan Karakterisasi.

ABSTRACT

CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CHITOSAN AND EXTRACTS OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM ENDOPHYTIC FUNGI ISOLATES

By

Wahidatun Nur Khasanah

Production of chitosan from fungi sources has received increasing attention in recent years. In this study, 4 fungi isolates were cultivated on Malt extract and Potato Dextrose Broth (PDB) media for 14 days, then extracted and screened. Based on the screening results, isolates of the fungi 19A15-RF on PDB media were obtained as superior isolates producing chitosan and extracts of bioactive compounds as antimicrobial agents. Morphological identification of isolate 19A15-RF is indicated as the genus *Aspergillus*. Scale up 5 L on PDB media resulted in a total yield of chitosan of 11.125%. Based on the results of antibacterial tests against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* and antifungi against *Malassezia globosa*, chitosan and isolate extract 19A15-RF have potential as antimicrobial agents at doses of 0.5 mg/mL. These results indicate that endophytic fungi derived from marine organisms related to the 19A15-RF strain are not widely known as a source of antimicrobials. This initial information is important, because it can be used as a basis for further development in the search for antimicrobials derived from endophytic fungi associated with marine organisms.

Keywords: Fungi, Chitosan, Metabolite Compounds, Antimicrobials, and Characterization.

**KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIMIKROBA KITOSAN DAN
EKSTRAK SENYAWA BIOAKTIF DARI ISOLAT *FUNGI* ENDOFIT**

Oleh
Wahidatun Nur Khasanah

Skripsi
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS
Pada
Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2023

Judul Skripsi

**:KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS
ANTIMIKROBA KITOSAN DAN EKSTRAK
SENYAWA BIOAKTIF DARI ISOLAT *FUNGI*
ENDOFIT**

Nama Mahasiswa

: **Wahidatun Nur Khasanah**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011002

Program Studi

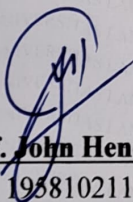
: Kimia

Fakultas

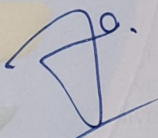
: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing


Prof. John Hendri, Ph.D.

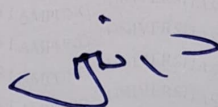
NIP. 19881021198703001


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

NIP. 195809221988111001

Ketua Jurusan Kimia

FMIPA Unila


Mulyono, Ph.D.

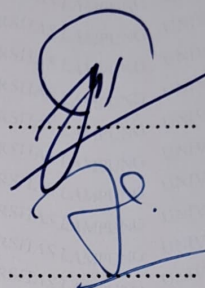
NIP. 197406112000031002

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: Prof. John Hendri, Ph.D



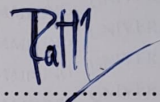
Sekretaris

: Prof. Andi Setiawan, Ph.D

Penguji

Bukan Pembimbing

: Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M.Si.....



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi :13 Juli 2023

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wahidatun Nur Khasanah

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917011002

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya dan sesungguhnya, bahwa skripsi saya yang berjudul “Karakterisasi dan Uji Aktivitas Antimikroba Kitosan dan Ekstrak Senyawa Bioaktif dari Isolat *Fungi* Endofit” adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dipublikasi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 09 Agustus 2023



Wahidatun Nur Khasanah

Wahidatun Nur Khasanah
7011002

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di desa Sidoharjo Kabupaten Pringsewu, pada tanggal 15 Januari 2001. Penulis merupakan anak pertama dari pasangan Bapak Yatin Suwarji dan Ibu Nurhayati. Penulis memiliki satu adik laki-laki.

Penulis menyelesaikan pendidikan taman kanak-kanak di TK Taruna Jaya pada tahun 2006. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SD Negeri 1 Sidoharjo yang selanjutnya pindah ke SD Negeri 1 Jati Agung dan lulus pada tahun 2013. Pendidikan Sekolah Menengah Pertama diselesaikan pada tahun 2016 di SMP Negeri 1 Ambarawa. Pendidikan Sekolah Menengah Atas diselesaikan pada tahun 2019 di SMA Negeri 1 Pagelaran, dan pada tahun yang sama penulis diterima sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur seleksi nasional masuk perguruan tinggi negeri (SNMPTN).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif mengikuti unit kegiatan mahasiswa di lingkungan MIPA. Penulis memulai aktivitas organisasi sebagai kader muda Himaki pada tahun 2019. Penulis pernah mengikuti kegiatan Karya Wisata Ilmiah yang diselenggarakan oleh BEM FMIPA Unila tahun 2019. Penulis telah menyelesaikan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Laboratorium Biopolimer dan UPT LTSIT Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung dengan judul “Karakterisasi Kitosan dari *Fungi* Endofit dengan Kode Sampel 19A15-RF

menggunakan Media *Potato Dextrose Broth*” dan kuliah kerja nyata (KKN) di Desa Karang Sari Kecamatan Pagelaran Kabupaten Pringsewu pada tahun 2022.

Motto

“Nikmati Prosesnya, dan Ikuti Alur cerita-Nya”
(Anonim)

“Hiduplah seperti Padi, Dimana Semakin Berisi Semakin Merunduk”
(Penulis)

“Sesungguhnya Sesudah Kesusahan Pasti Ada Kemudahan”
(Q.S. Al-Insyirah :5-6)

“Allah tidak Akan Membebani Seseorang Melainkan Sesuai dengan
Kesanggupannya”
(Q.S. Al-Baqarah : 286)

“Hanya Pendidikan yang Akan Menyelamatkan Masa Depan, tanpa Pendidikan
Indonesia tak Mungkin Bertahan”
(Najwa Shihab)

“Tidaklah mungkin bagi matahari mengejar bulan, dan malam pun tidak dapat
mendahului siang, masing masing beredar pada garis edarnya”
(Q.S. Yasin:40)

“Dan aku belum pernah kecewa dalam berdoa kepada Engkau ya Rabbku”
(Q.S. Maryam:4)

PERSEMBAHAN

Dengan mengucap Alhamdulillah, tiada sanjungan dan pujian yang berhak diucapkan selain hanya kepada Allah SWT., Sholawat beriring salam kepada nabi Muhammad SAW seorang Nabi yang sangat luar biasa untuk dijadikan tauladan umat manusia.

Dan dengan segala kerendahan hati kupersembahkan karya kecilku ini sebagai wujud Cinta, Bakti, dan Tanggung Jawabku kepada :

Kedua Orang Tuaku Tercinta (Dua Insan yang paling berjasa, penyemangat luar biasa, yang selalu berdoa untuk kesuksesanku).

Adikkku tersayang Nurman Aska Firdaus yang selalu mmeberikan keceriaan dan semangat untukku

Bapak Prof. John Hendri, Ph.D., Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D dan Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si., M.Si., dosen yang selalu membimbingku dalam mengerjakan penelitian dan tugas akhirku.

Seluruh Bapak Ibu dosen jurusan kimia yang telah memberikan ilmu, bimbingan, dan membagi pengalaman kepada penulis selama menempuh pendidikan di Jurusan Kimia fmipa Universitas Lampung.

Seluruh keluarga besarku yang selalu memberikan bantuan, dukungan, dan motivasi. Almamater tercinta Kimia FMIPA Universitas Lampung

SANWACANA

Bismillahirrahmananirrohiim

Puji syukur atas limpahan rahmat dan karunia-Nya serta hidayah-Nya , sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul

“Karakterisasi dan Uji Aktivita Antimikroba Kitosan dan Ekstrak Senyawa Bioaktif dari Isolat Fungi Endofit”

Dalam menyelesaikan skripsi ini, penulis banyak mendapatkan masukan, bantuan, bimbingan, dorongan, saran , dan kritik dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis ingin mengucapkan terimakasih setulus tulusnya kepada:

1. Bapak Yatin Suwarji dan Ibu Nurhayati selaku kedua orang tua atas segala kasih sayang, dukungan, semangat, dan doa yang telah diberikan kepada penulis sehingga karya ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga Allah membalas kebaikan yang telah diberikan dengan jannah-Nya, Aamiin.
2. Bapak Prof. John Hendri, Ph.D selaku pembimbing utama yang telah banyak memberikan waktunya untuk membimbing penulis dengan sabar, memberikan banyak ilmu pengetahuan, saran, arahan, serta motivasi kepada penulis selama penyelesaian penyusunan tugas akhir ini.
3. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D selaku pembimbing kedua sekaligus dosen pembimbing akademik yang telah banyak memberikan kritik dan saran yang membangun, dan segala motivasi dalam penyelesaian penyusunan tugas akhir ini.
4. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, S.Si.,M.Si, selaku pembahas yang telah memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.

5. Bapak Dr. Eng.Heri Satria, M.Si, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
6. Bapak Mulyono, Ph.D selaku ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
7. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si, selaku sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Bapak Ibu dosen dan seluruh staf Jurusan Kimia atas segala ilmu, motivasi, dan pengalamannya yang telah diberikan kepada penulis selama menempuh pendidikan di kampus.
9. Seluruh staf administrasi dan pegawai di lingkungan Jurusan Kimia, Dekanat FMIPA, serta Universitas Lampung yang senantiasa membantu dalam sistem akademik, perkuliahan, penelitian, sehingga penyusunan tugas akhir ini dapat selesai dengan baik.
10. Adiku tersayang Nurrman Aska Firdaus yang telah memberikan keceriaan dan semangatnya untuk penulis.
11. Kak Dr. Fendi Setiawan, S.Si., M.Si selaku mentor penelitian yang telah banyak sekali membantu, memberikan dukungan, kritik, saran, motivasi, dan semangat sehingga penyusunan tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik. Semoga cita cita untuk kita tetap jadi patner penelitian hingga mencapai gelar doktor tercapai dan semoga kuliah kita selanjutnya dipermudah dan diperlancar hingga menjadi peneliti hebat, aamiin.
12. Kak M. Rizky Fadhillah, S.Si., selaku kakak pembimbing PKL penulis yang telah banyak memberikan masukan, saran, motivasi, dan dukungan kepada penulis sehingga penyusunan tugas akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
13. JH 19: Adhella Pragustiyanti M.,S.Si., Farich Andre Anas, S.Si, dan Wahyu Indah Sivi Budyanti, S.Si yang telah memberikan segala motivasi, dukungan, semangat, pengalaman, cerita, canda, suka duka penelitian dan penyusunan tugas akhir ini, semoga apa yang kalian impikan tercapai walau cara untuk menjemput impian kita semua berbeda beda, aamiin

14. Mahasiswa Prof John :kak Dr.Ridho Nahrowi, M.Si., mba Dr. Widayastuti, M.Si, mba Larasati Gadis Ermadi, S.Si, Annisa Larasati, S.Si, yang telah memberikan semangat dan cerita selama menjadi patner nge lab.
15. Mahasiswa Prof Andi Setiawan : mba Annisa Elcentia, M.Si, mba Mega Muryani, S.Si, kak Casya alfandy, S.Si, Reza fadhila, S.Si, Fatur Rohim, S.Si, dan Riski Pangestu, S.Si, terimakasih telah berbagi banyak pengalaman dna cerita selama menjadi patner kerja laboratorium.
16. Sahabat sahabatku Jihan Nafisa Salsabila, S.Si., Novita Darmastuti, S.Si, dan Sinur Angelina Putri Naigolan, S.Si, yang sudah membagikan pengalaman dari kita masih menjadi mahasiswa baru.
17. Teman teman patner di laboratorium: Siti Soleha, S.Si., Cici Nurhidayah, S.Si, Sulfiany, S.Si, Ibnu Fadhilah, S.Si., termakasih telah memberikan warna dalam mengerjakan penelitian dilaboratorium.
18. Teman Teman KKN Desa Karang Sari, Pagelaran, Pringsewu : Siska Maulia Arini, S.Pt, Evitya Elsinta, S.P., Veronika Frisda Anintya, S.A.N, Cornelliuss Herlang Fernando, S.Ked, dan Fatwa Aditya Putra, S.T yang telah memberikan warna dalam perjalanan kuliah khususnya kegiatan KKN
19. Mahasiswa bimbingan Pak John angkatan 2020 Alda, Ester, Jordy, Irfan, dan Sulthan yang telah banyak membantu kegiatan di labpratorium semasa penelitian.
20. Keluarga besar Jurusan Kimia khususnya mahasiswa kimia angkatan 2017, 2018, 2019, dan 2020 atas segala kebersamaannya dan kekeluargaannya selama ini.
21. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang secara tulus memberikan moril dan materil kepada penulis.

Bandar Lampung, 24 Juli 2023

Penulis

Wahidatun Nur Khasanah

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Perairan Gorontalo	4
2.2. Taman Mangrove Sriminosari	5
2.3. Spons	7
2.4. Identifikasi <i>Fungi</i>	9
2.5. <i>Aspergillus</i>	9
2.6. Media Tumbuh <i>Fungi</i>	11
2.7. Kitosan	11
2.8. Kitosan sebagai Antimikroba.....	13
2.9. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
2.10. <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.11. <i>Malassezia globosa</i>	15

2.12. Antimikroba	15
2.13. Kinetika Uji Antimikroba	16
2.14. Kromatografi	18
2.14.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	18
2.14.2. Kromatografi Kolom	19
2.15. <i>Submerged Fermentation</i> (SmF).....	19
2.16. <i>Fourier Transform Infrared</i> (FTIR).....	20
III. METODE PENELITIAN	22
3.1. Waktu dan Tempat	22
3.2. Alat dan Bahan	22
3.3. Prosedur Penelitian.....	23
3.3.1. Pembuatan Media Ekstrak <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA), <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB), dan Malt Ekstrak	23
3.3.3. Peremajaan	24
3.3.2. Biomaterial	24
3.3.4. Identifikasi Morfologi	26
3.3.5. Kultivasi pada Media Ekstrak <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB) dan Malt Ekstrak.....	26
3.3.7. Ekstraksi Kitosan dari <i>Fungi</i>	26
3.3.8. Skrining Aktivitas Antimikroba.....	27
3.3.9. Karakterisasi Kitosan menggunakan FTIR	28
3.3.10. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	29
3.3.11. Identifikasi Morfologi Isolat Unggul	29
3.3.12. Kultivasi Skala Besar (<i>Scale Up</i>).....	29
3.3.13. Pemurnian Senyawa dan Uji Bioautografi	30
3.3.14. Pemurnian Senyawa Metabolit dan Kitosan	30
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1 Analisis Makroskopis Isolat Fungi Endofit	32
4.2. Identifikasi Morfologi Isolat <i>Fungi</i> secara Mikroskopis	33
4.3. Kultivasi dan Ekstraksi	35
4.4. Skrining Isolat Fungi.....	37
4.4.1. Skrining Uji Antibakteri.....	38

4.4.2. Skrining Aktivitas Antifungi.....	39
4.5 Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Isolat terpilih.....	40
4.6. Identifikasi Morfologi Isolat 19A15RF	42
4.7. Kultivasi Skala Besar Isolat <i>fungi</i> 19A15-RF.....	42
4.8. Pemurnian Senyawa dan Uji Bioaktivitas Antimikroba	44
4.8.1 Aktivitas Kitosan sebagai Antibakteri	44
4.8.2. Aktivitas Senyawa Metabolit sebagai Antibakteri.....	46
4.8.3. Aktivitas Kitosan sebagai Antifungi	47
4.8.4. Aktivitas Senyawa Bioaktif sebagai Antifungi.....	48
4.9. Pemurnian Senyawa Ekstrak Senyawa Bioaktif hasil <i>Scale Up</i>	49
4.10. Karakterisasi Kitosan dan Ekstrak 19A15RF menggunakan <i>FTIR</i>	53
V. SIMPULAN DAN SARAN	55
5.1 Simpulan	55
5.2. Saran.....	55
DAFTAR PUSTAKA	57
LAMPIRAN.....	68

DAFTAR GAMBAR

Gambar.....	Halaman
1. Teluk Tomini Perairan Gorontalo	4
2. Mangrove Sriminosari, Lampung Timur	6
3. Morfologi Akar Mangrove.....	7
4. Morfologi Spons	8
5. Morfologi <i>Aspersgillus sp.</i>	10
6. Struktur Kitosan.	12
7. Pertumbuhan Isolat yang diamati secara visual (a) 19A15-RF; (b)20BA0502-RF; (c) 20CD01-RF; dan (d) 21A2A1	32
8. Rendemen kitosan dari <i>fungi</i>	37
9. Hasil skrining Antibakteri;.....	38
10. Hasil skrining Antifungi.....	39
11. Morfologi isolat; (a) isolat 19A15-RF dalam media agar; (b) mikroskop Zeiss Axio Imager A1 pada perbesaran 400 X isolat 19A15-RF; dan (c) SEM isolat 19A15-RF pada perbesaran 5.00K X	42
12. KLT fraksi EtOAc Hasil <i>scale up</i> dengan fasa gerak Heksana: EtOAc (7:3); (a) UV 254; (b)Ce(SO ₄) ₂ (c) Dragendorff	43
13. KLT <i>Crude</i> dengan fasa gerak Heksana: EtOAc (7:3) (a) fraksi n-Heksana dan (b) MeOH	44
14. Aktivitas kitosan terhadap: (a) bakteri <i>S.aureus Clinical Pathogen</i> ; (b) bakteri <i>S.aureus ATCC</i> ; dan (c) bakteri <i>P.aeruginosa Clinical Pathogen</i>	45

15. Uji bioaktivitas senyawa bioaktif terhadap antibakteri; (a) Aktivitas bioaktif terhadap <i>S.aureus Clinical Pathogen</i> ; (b) Aktivitas bioaktif terhadap <i>S.aureus</i> ; dan (c) Aktivitas bioaktif terhadap <i>P.aeruginosa Clinical Pathogen</i>	46
16. Uji bioaktivitas kitosan terhadap antifungi; (a) Kitosan dari <i>fungi</i> ; (b) kitosan dari kulit udang.....	47
17. Uji bioktivitas senyawa metabolit terhadap antifungi.....	48
18. KLT fraksi MeOH dengan fasa gerak Heksana:EtOAc (7:3) diamati pada UV 254 nm dan reagen serium sulfat	49
19. Kromatografi kolom dari fraksi MeOH dengan fasa gerak n-heks:etil asetat(7:3)	50
20. KLT gabungan fraksi 2-4 dengan fasa gerak heksana 100%, heksana:IPA (9:1) dan (7:3)	50
21. KLT 10 fraksi hasil re-kolom menggunakan fasa diam SiO ₂ dan fasa gerak heksana:EtOAc 7:3 (a) UV 254 nm; (b) Ce(SO ₄) ₂	51
22. Hasil uji terhadap antibakteri dan antifungi dengan metode bioautografi; (a) antibakteri terhadap <i>S.aureus</i> ; dan (b). antifungi	51
23. KLT gabungan fraksi 3 dan 4 menggunakan fasa diam SiO ₂ dan fasa gerak heksana:EtOAc (7:3).....	52
24. KLT F50 menggunakan fasa diam SiO ₂ dan fasa gerak heksana:EtOAc (7:3)....	52
25. Spektrum FTIR Kitosan dari <i>fungi</i>	53
26. Spektrum FTIR Ekstrak 19A15-RF	54

DAFTAR TABEL

Tabel.....	Halaman
1. Bilangan Gelombang Kitosan.	21
2. Identifikasi morfologi.....	33
3. Perolehan Berat Kitosan.....	35
4. Nilai Rf hasil visualisasi KLT.....	41
5. Diameter zona hambatan kitosan dari <i>fungi</i> 19A15-RF.....	45
6. Diameter zona hambatan senyawa bioaktif terhadap antibakteri.....	46
7. Diameter zona hambatan kitosan terhadap antifungi.....	47
8. Diameter zona hambatan senyawabioaktif terhadap antifungi.....	48

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kitosan dihasilkan dari kitin dan mempunyai struktur kimia yang sama dengan kitin, terdiri dari rantai molekul yang panjang dan berat molekul yang tinggi. Perbedaan antara kitin dan kitosan ada pada setiap cincin molekul kitin terdapat gugus asetil (-CH₃-CO) pada atom karbon kedua, sedangkan pada kitosan terdapat gugus amina(-NH₂). Sumber kitosan sangat melimpah di alam terutama dari hewan golongan krustasea seperti udang dan kepiting (Sanjaya dan Yuanita, 2007). Tidak hanya pada hewan golongan krustasea, penelitian tentang kitosan yang berasal dari *fungi* dan ini merupakan salah satu alternatif sebagai sumber kitosan yang efektif dan aman dalam proses ekstraksinya (Muzarelli, 2013). Dinding sel *fungi* banyak memiliki kandungan seperti kitin, kitosan, dan β -glucan (Belonoznikova *et al.*, 2022). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *fungi* merupakan sumber kitosan yang memiliki potensi besar untuk menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif (Mohammad *and* Wright, 2006).

Kitosan banyak dimanfaatkan dalam bidang industri, diantaranya untuk pengawet makanan (pengganti formalin dan boraks) (Sharif *et al.*, 2018). Kitosan dapat berfungsi sebagai bahan pengawet karena memiliki sifat antibakteri (Zheng dan Zhu, 2002 dalam No *et al.*, 2002). Kitosan juga digunakan sebagai bahan pengolahan limbah kosmetik, biokontrol dalam hortikultura dan pertanian (Devappa *et al.*, 2021), sebagai pembalut luka hingga pendarahan yang parah, sebagai obat pelangsing, (Amirian *et al.*, 2021), dan sebagai agen penghantaran obat (Idris *et al.*, 2021).

Kitosan memiliki sifat antimikroba, hal tersebut telah dilaporkan oleh para peneliti. Kitosan juga memberikan aktivitas antibakteri pada *E. coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa* dan *S.paratyphi* (Fernandez *et al.*,2006). Kemampuan kitosan sebagai antimikroba yaitu karena adanya muatan parsial positif kitosan yang mampu mengikat DNA mikroba dimana dapat menghambat mRNA setelah menembus inti (Golder *et al.*, 2019), sedangkan menurut Wulandari, (2008) kitosan yang berasal dari *fungi* (*Aspergillus niger*) dengan konsentrasi 1 % sangat efektif sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Bacillus substilis*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Escherichia coli*. Kitosan dengan konsentrasi 0,5% dan 1% yang dilaporkan pada penelitian Killay, (2013) diketahui dapat menghambat pertumbuhan bakteri pada ikan asin yang dikeringkan dan Mariska (2012) telah melakukan isolasi kitosan dari *fungi* yang diuji daya hambatnya terhadap bakteri penyebab jerawat, yaitu bakteri *Propionibacterium acne*, hasil uji antimikroba menunjukkan bahwa kitosan dari *fungi* memiliki daya hambat minimum pada konsentrasi 0,125 %.

Ekstrak kitosan dilaporkan oleh Fitria dkk, (2022) telah dilakukan variasi penambahan ekstrak kitosan pada tiap erlenmeyer dengan variasi konsentrasi yakni sebesar 1/2 MIC, 1 MIC, dan 2 MIC. Sampel sebanyak 0,1 mL diambil setiap dua jam (0, 2, 4, 6, 8,10,12, dan 24 jam). Hasil dari pengamatan yang dilakukan terhadap ekstrak kitosan diperlihatkan bahwa *S.aureus* menghasilkan daya bakterisidal yang aktivitasnya tergantung dari konsentrasi ekstrak kitosan serta waktu inkubasi. Ekstrak kitosan menghasilkan kecepatan bunuh yang berbeda terhadap masing masing strain bakteri. Bakteri *S.aureus* berhasil dieradikasi dari kultur setelah dipapar oleh ekstrak kitosan selama 8 jam. Meskipun ekstrak kitosan diketahui memiliki aktivitas antibakteri, namun berdasarkan pengujian yang telah dilakukan, aktivitas antibakteri ekstrak kitosan relatif lebih rendah jika dibandingkan dengan antibiotik.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui hasil karakterisasi dan uji aktivitas antimikroba kitosan yang berasal dari *fungi* yang berasosiasi dengan spons dari perairan Oluhuta, Gorontalo dengan kode isolat 19A15-RF serta isolat yang berasal dari taman wisata mangrove Pandan Alas, Sriminosari, Lampung Timur yaitu

20BA0502-RF, 20CD01-RF, dan isolat dari taman wisata mangrove Gebang, Pesawaran, Lampung 21A2-A1.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini sebagai berikut:

1. Mengekstraksi dan mengkarakterisasi kitosan yang berasal dari *fungi*.
2. Menguji kemampuan aktivitas antimikroba dari kitosan dan ekstrak kasar isolat *fungi*.
3. Menentukan kemampuan kitosan dan ekstrak senyawa dari isolat *fungi* terhadap *fungi* patogen *Malassezia globosa* serta bakteri resistensi *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

1.3. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai kitosan yang berasal dari *fungi* dan ekstrak isolat *fungi* sebagai agen antimikroba.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Perairan Gorontalo

Teluk Tomini Gorontalo termasuk dalam wilayah administrasi Kota Gorontalo. Teluk ini memiliki sumber daya perikanan dan kelautan yang tinggi karena secara geografis terletak di dalam Teluk Tomini, Laut Sulawesi dan Zona Ekonomi Eksklusif (Kadim dan Arsad, 2016). Perairan Teluk Tomini dikenal relatif subur dan kaya akan potensi alam laut (Yusron dan Edward, 2000). Teluk Tomini merupakan salah satu perairan di Indonesia yang sangat potensial untuk pengembangan usaha perikanan (Natsir dan Wudianto, 2017).

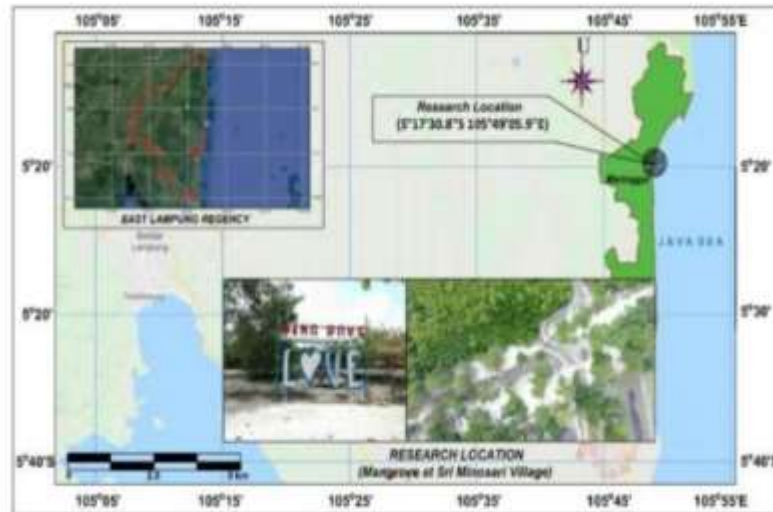


Gambar 1. Teluk Tomini Perairan Gorontalo

Teluk ini mempunyai peran penting bagi dunia karena letaknya yang persis berada di jantung segitiga karang dunia (*heart of the coral triangle*). Tepat berada di garis khatulistiwa dan memiliki ekosistem laut semi tertutup, teluk ini menyimpan sumber daya perikanan yang besar, terumbu karang endemik, hamparan mangrove yang luas, serta sumber daya pesisir yang melimpah (Bano dan Khakhim, 2016).

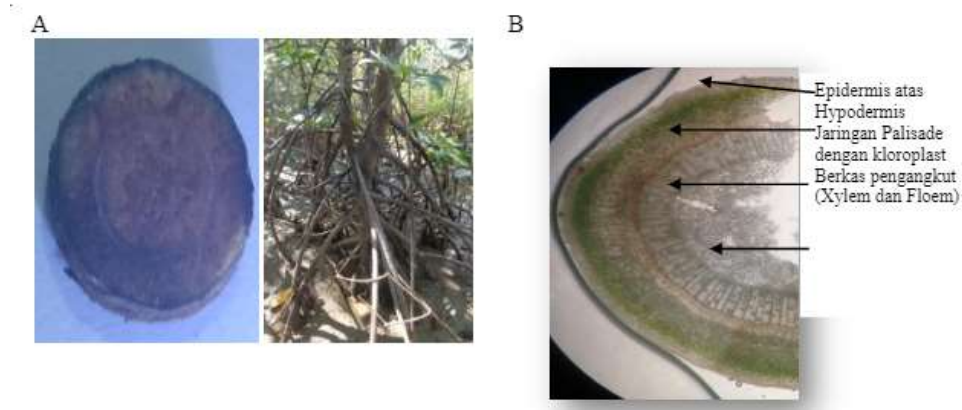
2.2. Taman Mangrove Sriminosari

Ekowisata dianggap sebagai salah satu pilihan yang layak dalam mengembangkan kegiatan pemanfaatan ekosistem mangrove secara berkelanjutan bagi masyarakat pedesaan yang menghadapi penurunan sumber daya alam dan tinggal di sekitar wilayah pesisir. Salah satu desa yang di daerah pesisir yang memiliki potensi ekosistem mangrove adalah Desa Sriminosari. Seiring dengan upaya meningkatkan potensi sumber daya alam yang dimiliki desa tersebut, khususnya sumberdaya ekosistem mangrove maka pemanfaatan objek wisata mangrove secara optimal dan lestari memberi peranan yang besar. Potensi wisata mangrove di Desa Sriminosari memiliki daya tarik tersendiri karena memiliki beranekaragam kekayaan alam yang khas bahkan ada yang bersifat endemik baik itu flora dan fauna. Potensi ini dapat dijadikan suatu model ekowisata (*ecotourism*) untuk dipasarkan kepada wisatawan, baik di dalam maupun di luar negeri (Murni *et al.*, 2018).



Gambar 2 Mangrove Sriminosari, Lampung Timur (Oktavianti, 2021)

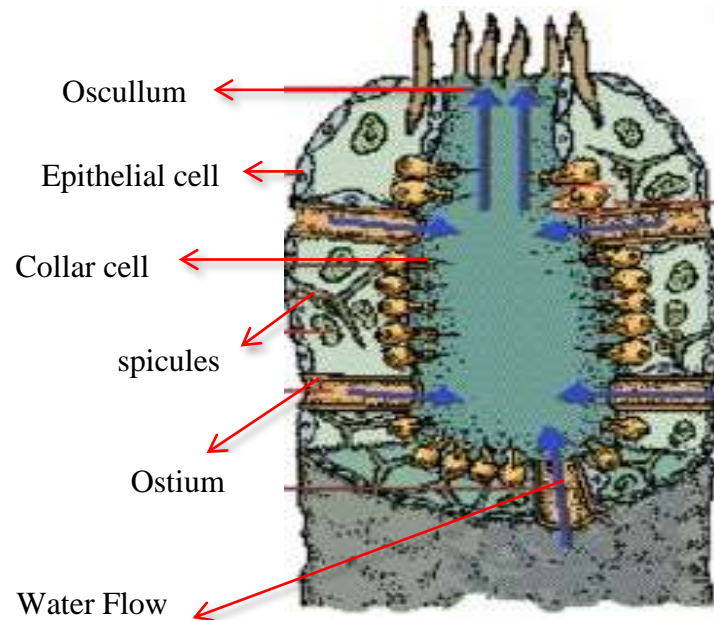
Salah satu tumbuhan yang banyak mengandung senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *fungi* endofit yaitu tumbuhan mangrove. Menurut Noor *et al.*, (2012) mangrove merupakan tumbuhan yang hidup antara laut dan darat, berbentuk semak dan pohon dan pada waktu pasang, akar-akar dari tumbuhan mangrove ini akan tergenang oleh air dan waktu surut akar-akarnya akan terlihat. Spesies dari mangrove tersebut salah satunya *Rhizophora apiculata* yang tumbuh pada tanah yang berlumpur, tergenang air saat pasang dan tidak menyukai substrat keras misalnya pasir. Sejauh ini, telah banyak peneliti yang berhasil mengisolasi *fungi* endofit dan senyawa metabolit sekunder dari berbagai jenis tanaman mangrove (Mukhlis dkk, 2018). Literatur menyebutkan bahwa mangrove mengandung metabolit sekunder tinggi yang tidak terlepas dari peran *fungi* endofit sebagai penghasilnya *fungi* endofit sendiri didefinisikan sebagai *fungi* yang bersimbiosis dalam jaringan tanaman. membentuk koloni namun tidak merugikan/membahayakaninangnya (Tumangger *et al.*,2018). *Fungi* endofit menginduksi tanaman sehat menghasilkan senyawa metabolit sekunder (Murdiah,2017).



Gambar 3 Morfologi Akar Mangrove (Hadi dkk,2016).

2.3. Spons

Spons (porifera) merupakan biota laut multi sel yang fungsi jaringan dan organnya sangat sederhana. Habitat spons umumnya adalah menempel pada pasir, batu-batuan dan karang-karang mati. Biota laut ini dikenal dengan "*filter feeders*", yaitu mencari makanan dengan mengisap dan menyaring air melalui sel cambuk dan memompakan air keluar melalui oskulum. Partikel-partikel makanan seperti bakteri, mikroalga dan detritus terbawa oleh aliran air ini (Amir, 1996). Habitat spons yang melekat pada pasir atau bebatuan menyebabkan hewan ini sulit untuk bergerak. Untuk mempertahankan diri dari serangan predator dan infeksi bakteri patogen, spons mengembangkan system "*biodefense*" yaitu dengan menghasilkan zat racun dari dalam tubuhnya, zat ini umumnya dapat dimanfaatkan sebagai bahan farmasi (Motomasa, 1998).



Gambar 4. Morfologi Spons (Kawaroe dkk, 2014)

Spons (spons laut) adalah hewan berongga tanpa tulang belakang yang paling rendah tingkatannya. Dikatakan hewan tingkat rendah karena struktur tubuhnya hanyalah suatu benda seperti *jelly* (*mesohyl*) yang ditutup oleh 2 lapisan. Epidermisnya adalah pinakosit dan endodermisnya adalah koanosit. Spons merupakan salah satu komponen biota penyusun terumbu karang yang mempunyai potensi bioaktif yang belum banyak dimanfaatkan. Hewan laut ini mengandung senyawa aktif yang persentase keaktifannya lebih besar dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh tumbuhan darat (Ghozali, 2016). Spons, koral, dan mikroba laut lainnya berpotensi menghasilkan metabolit sekunder yang memiliki berbagai macam aktivitas biologis (senyawa bioaktif) seperti: antibiotik, antikanker, dan antitumor (Armaida dan Khotimah, 2016 dalam Safitri *et al.*, 2017).

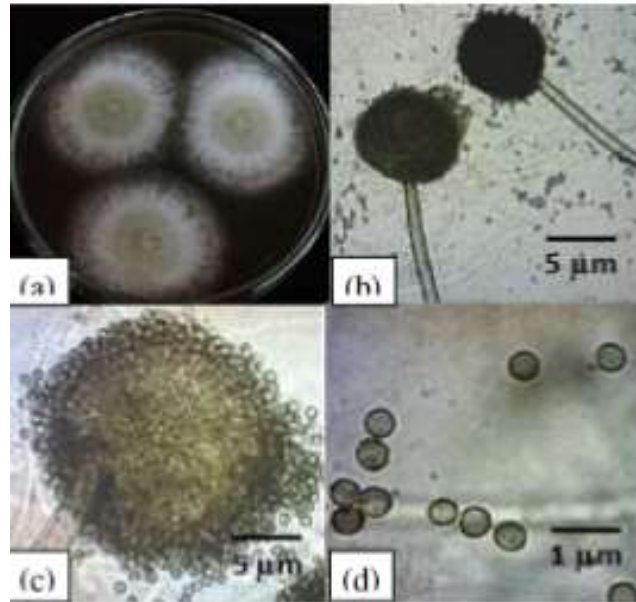
2.4. Identifikasi *Fungi*

Fungi merupakan mikroorganisme heterotrof yang bereproduksi secara seksual dan atau aseksual, struktur vegetatif berupa sel tunggal atau berfilamen menyatakan bahwa simbiosis mikroba dengan spons dapat berlangsung di dalam sitoplasma sel tubuh spons, di sisi dalam tubuh spons dan di bagian luar tubuh spons (Kacombo *et al.*, 2018). Selain famili krustasea, *fungi* juga telah dilaporkan sebagai sumber kitosan. Beberapa alasan seperti pasokan yang terputus-putus dan variasi musiman dari sumber laut, membuat *fungi* dapat digunakan sebagai alternatif yang layak sebagai sumber awal pembuatan kitosan.

Identifikasi suatu *fungi* dapat dilakukan dengan melakukan pengamatan karakter morfologi koloni, fisiologi, dan biokimia (Djakatara, 2019). Salah satu aspek yang dapat menjadi tolak ukur dalam identifikasi suatu *fungi* ialah ciri morfologi. Ciri morfologi yang dimaksud adalah bentuk payung, warna, tekstur payung, dan ciri lain yang terlihat. Cara mengidentifikasi *fungi* dapat dilihat dari morfologi dengan *K-Nearest Neighbor sebagai classifier*. Identifikasi ciri morfologi ini digunakan untuk membantu identifikasi *fungi*, sehingga nantinya akan dapat diketahui termasuk kelas apakah suatu *fungi* tersebut (Zubair *et al.*, 2017).

2.5. *Aspergillus*

Aspergillus merupakan *fungi* yang mampu hidup pada media dengan derajat keasaman dan kandungan gula yang tinggi. *Fungi* ini dapat menyebabkan pembusukan pada buah-buahan atau sayuran (Handajani dan Purwoko, 2008). *Aspergillus* merupakan spesies *fungi* memiliki spora yang mudah disebarkan oleh angin, mudah tumbuh pada bahan-bahan organik atau produk hasil pertanian (Fadilah, 2011).



Keterangan: a). Koloni *Fungi Aspergillus sp.*, b). Konidiofor, c). Vesikel, d). Konidia

Gambar 5 Morfologi *Aspergillus sp.* (Sukmawati dkk, 2018).

Aspergillus termasuk dalam divisi *Eumycophyta*, kelas *Ascomycetes* dan ordo *Aspergillales*. Memiliki familia *Aspergillaceae*, genus *Aspergillus* dan spesies *Aspergillus sp.* *Aspergillus* adalah *fungi* yang membentuk filamen-filamen panjang bercabang, dan dalam media biakan membentuk miselia dan konidiospora (Vennewald *et al.*, 2005). *Aspergillus* merupakan mikroorganisme eukariot, saat ini diakui sebagai salah satu diantara beberapa makhluk hidup yang memiliki daerah penyebaran paling luas serta berlimpah di alam, selain itu jenis kapang ini juga merupakan kontaminan umum pada berbagai substrat di daerah tropis maupun subtropis (Mizana dkk, 2016). *Aspergillus* adalah genus besar *fungi anamorphic*. *Aspergillus* dibagi menjadi delapan belas kelompok yaitu, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus ornatus*, *Aspergillus cervinus*, *Aspergillus restrictus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus ochraceous*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus candidus*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus goii*, *Aspergillus cremeus*, *Aspergillus*

sparsus, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus ustus*, *Aspergillus flavipes* dan *Aspergillus terreus* (Afzal *et al.*, 2013).

2.6. Media Tumbuh *Fungi*

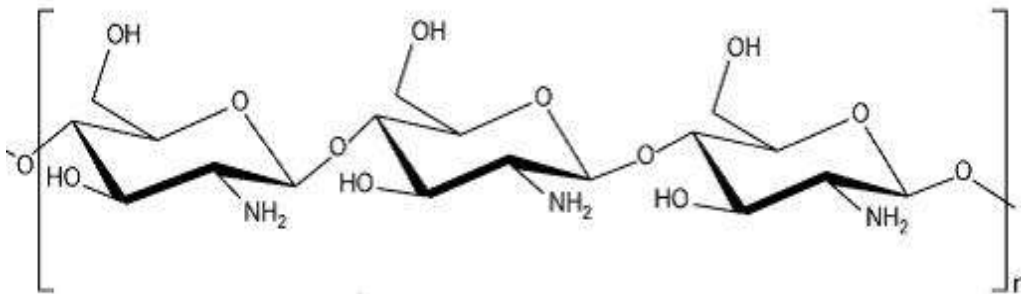
Fungi dapat tumbuh dalam beberapa media. Media yang digunakan untuk pertumbuhan *fungi* harus yang kaya akan nutrisi dan baik untuk pertumbuhan *fungi*. Ada tiga media yang mewakili media kaya nutrisi yaitu *Malt Extract Agar* (MEA), media dengan nutrisi sedang *Glucose Pepton Yeast extract* (GPY), dan media dengan nutrisi rendah yaitu *Minimal Fungal Medium* (MFM). Media dan lingkungan tumbuh mikroba sangat mempengaruhi kecepatan pertumbuhan, jenis dan jumlah senyawa metabolit yang dihasilkan (Bode *et al.*, 2002).

Karbohidrat dan derivatnya merupakan sumber utama metabolisme karbon pada *fungi*. *Potato Dextrose Agar* (PDA) merupakan salah satu contoh media pertumbuhan *fungi* yang tergolong media umum untuk menumbuhkan semua jenis *fungi*. Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) ada yang dibuat dengan formula lengkap, formula racikan, dan dengan bahan alami. Media *Potato Sucrose Agar* (PSA) adalah media yang komposisinya terdiri dari ekstrak kentang yang bisa dibuat sendiri dengan mudah, sukrosa (gula pasir) dan kentang sebagai sumber gula dan energi karbohidrat bagi *fungi* dimana setelah mengalami fermentasi sukrosa akan berubah menjadi glukosa dan fruktosa yang akan dimanfaatkan menjadi energi pertumbuhannya. (Damare *et al.*, 2006).

2.7. Kitosan

Kitosan adalah turunan dari kitin yang diperoleh dengan deasetilasi yang merupakan polisakarida terbanyak kedua di bumi setelah selulosa dan dapat ditemukan pada eksoskeleton invertebrata dan beberapa *fungi* pada dinding selnya. Kitosan berasal

dari bahan organik dan bersifat polielektrolit kation sehingga dalam proses pengolahan air sangat potensial digunakan sebagai koagulan alam. Kitosan yang memiliki rumus umum $(C_6H_9NO_3)_n$ disebut dengan nama lain poli (β -(1,4)-2-amino-2-Deoksi-D-Glukopiranos). Kitosan bukanlah senyawa tunggal, akan tetapi merupakan polimer yang terdeasetilasi sebagian dengan derajat asetilasi yang menunjukkan gugus asetil dalam rantainya. Kitosan mengandung gugus bermuatan positif. Gugus tersebut yakni gugus amino bebas dalam rantai karbonnya (Hambali dkk, 2017).



Gambar 6 Struktur Kitosan (Noviani, 2012).

Sumber bahan baku kitosan yang lain di antaranya kalajengking, fungi, cumi, gurita, serangga, laba-laba dan ulat sutera dengan kandungan kitin antara 5-45 %. Kitosan merupakan bahan kimia yang memiliki banyak manfaat berbentuk serat dan merupakan kopolimer berbentuk lembaran tipis, berwarna putih atau kuning, tidak berbau (Rismana, 2006).

Penggunaan kitosan dikembangkan karena sifat kitosan yang merupakan suatu biopolimer organik memiliki sifat non-toksik, *biodegradable* dan hidrofilik. Kitosan terdiri dari gugus fungsi amina dan hidroksil (Abdullah *et al.*, 2017). Sintesis kitosan diperoleh dari cangkang hewan seperti udang, kepiting dan lobster. Kitosan semakin menarik dikembangkan karena ukuran partikelnya dapat dibuat nano dan luas permukaannya kecil sehingga mudah untuk dimodifikasi dengan material kimia lainnya (Zhan *et al.*, 2014).

2.8. Kitosan sebagai Antimikroba

Penggunaan senyawa antimikroba yang tepat dapat memperpanjang umur simpan suatu produk serta menjamin keamanan produk. Untuk itu dibutuhkan bahan alternatif lain sebagai antimikroba yang alami sehingga tidak membahayakan bagi kesehatan yaitu penggunaan kitosan untuk menghambat aktivitas mikroba. Kitosan mempunyai gugus aktif yang akan berikatan dengan mikroba sehingga kitosan juga mampu menghambat pertumbuhan mikroba. Satu hal yang sangat melegakan adalah kitosan sama sekali tidak berefek buruk. Saat ini, kitosan telah diproduksi secara industri di negara-negara maju terutama Jepang dan Amerika Serikat dan mengalami peningkatan yang cukup tajam. Kitosan ini merupakan bahan yang sumbernya melimpah dan dapat diperbaharui, maka dalam situasi pengurangan sumber-sumber alam yang berkelanjutan serta perkembangan bioteknologi yang demikian pesat menjadikan pemanfaatan sumber daya alam merupakan hal yang sangat diperlukan (Mahatmanti dkk, 2010).

Kitosan memiliki sifat antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan mikroorganisme pemusuk termasuk bakteri Gram positif dan Gram negatif (Hafdani, 2011). Adanya polikation yang bermuatan positif pada kitosan dapat menekan pertumbuhan bakteri penyebab penyakit (Mardy, 2016). Kitosan sangat berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan antimikroba, karena mengandung enzim lisozim dan gugus aminopolisakarida yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Kemampuan dalam menekan pertumbuhan bakteri disebabkan bahwa kitosan memiliki polikation bermuatan positif yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri (Riski *et al.*, 2015).

2.9. *Pseudomonas aeruginosa*

Sistematika penggolongan bakteri *Pseudomonas aeruginosa* adalah:

Divisi : Proteobacteria

Kelas : Gammaproteobacteria
 Ordo : Pseudomonadales
 Famili : Pseudomonadaceae
 Genus : Pseudomonas
 Spesies : *Pseudomonas aeruginosa* (Dwijayanti,2016).

Pseudomonas aeruginosa berbentuk batang, berukuran sekitar 0,6 x 2 µm. Bakteri ini merupakan bakteri gram negatif dan terlihat sebagai bentuk tunggal, ganda, dan kadang-kadang dalam rantai pendek (Jawetz *et al.*, 2005). *Pseudomonas aeruginosa* dapat diidentifikasi dengan pewarnaan Gram, tidak meragi laktosa, memberikan reaksi oksidase positif, dan dapat tumbuh pada suhu 42°C. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* berbau seperti buah-buahan dan berwarna spesifik (Malik *et al.*, 2009). Koloninya berwarna hijau kebiru-biruan karena menghasilkan pigmen piosianin (Entjang, 2003).

2.10. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus merupakan bakteri yang tumbuh optimum pada suhu 37°C tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar. Koloni bakteri ini berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram Positif (Syahrurahman *et al.*, 2010). *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan infeksi pada kulit seperti eksim, luka pembedahan, atau akibat alat intavena (Jawetz *et al.*, 2008).

Menurut Jawetz *et al.* (2008) klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisi : Eukariota
 Kelas : Schizomycetes
 Bangsa(Ordo) : Eubacteriales

Suku (Famili) : Micrococcaccus

Marga (Genus) : Staphylococcus

Jenis (Spesies) : *Staphylococcus aureus*

2.11. *Malassezia globosa*

Malassezia merupakan eukariotik tunggal anggota flora mikroba kulit. *Malassezia* telah diakui selama lebih dari 150 tahun sebagai agen etiologi penyakit kulit tertentu. *Malassezia globosa* merupakan *fungi* yang menyebabkan terjadinya ketombe. Ketombe adalah kondisi kulit patologis yang sering terbatas 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*). (Rudramurthy *et al.*, 2014).

Malassezia menginfeksi kulit manusia setelah lahir dan karena itu, sebagai komensal, biasanya ditoleransi oleh sistem kekebalan manusia. Ragi *Malassezia* juga memiliki potensi patogen dalam kondisi yang sesuai, menginvasi stratum korneum dan berinteraksi dengan sistem kekebalan inang, baik secara langsung tetapi juga melalui mediator kimia. Distribusi spesies pada kulit dan potensi patogenetik ragi bervariasi antara penyakit terkait *Malassezia* yang berbeda seperti dermatitis kepala dan leher, dermatitis seboroik (Schwart *et al.*, 2012).

2.12. Antimikroba

Antimikroba adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh *fungi* dan bakteri, zat tersebut memiliki khasiat atau kemampuan untuk mematikan/menghambat pertumbuhan kuman sedangkan toksisitas terhadap manusia relative kecil. Pernyataan tentang

definisi antimikroba menurut Waluyo (2004), antimikroba merupakan suatu zat-zat kimia yang diperoleh atau dibentuk dan dihasilkan oleh mikroorganisme, zat tersebut mempunyai daya penghambat aktifitas mikroorganisme lain meskipun dalam jumlah sedikit. Metode pengujian daya antimikroba bertujuan untuk menentukan konsentrasi suatu zat antimikroba sehingga memperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Terdapat dua metode untuk menguji daya antimikroba, yaitu difusi dan difusi.

Senyawa yang mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri banyak terkandung di dalam tumbuhan. Beberapa senyawa antimikroba antara lain yaitu, saponin, tannin, flavonoid, xantol, terpenoid, alkaloid dan sebagainya (Suerni dkk, 2013). Selain senyawa antimikroba yang diperoleh dari tumbuhan ada pula senyawa antimikroba buatan, contohnya amoxilin. Pada dasarnya setiap senyawa antimikroba memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara melisis dinding sel bakteri.

2.13. Kinetika Uji Antimikroba

Aktivitas antibakteri dari kitosan ditentukan berdasarkan daya hambat yang diukur menggunakan zona bening. Aktivitas antibakteri tersebut dapat dipelajari pola daya hambatnya menggunakan pendekatan kinetika kimia dengan menghitung orde reaksi dan tetapan aktivitas lajunya. Triyono dkk, (1998) menyatakan bahwa dengan hanya perubahan $[A]_0$ saja dan hukum laju reaksi diasumsikan $r = k[A]^a [B]^b [C]^c$ maka orde reaksi dapat ditentukan. Dengan demikian, untuk reaksi penghambatan aktivitas antibakteri yang hanya menggunakan satu pereaksi yang konsentrasinya bervariasi dapat digunakan untuk menghitung orde reaksi. Jika orde telah diketahui maka berdasarkan hukum lajunya dapat dihitung besarnya tetapan laju pada temperatur yang dipilih pada masa inkubasi. Triyono dkk, (1998) menyatakan konstanta laju merupakan fungsi temperatur. Orde reaksi hanya dapat dihitung secara eksperimen dan hanya dapat diramalkan jika suatu mekanisme reaksi diketahui seluruh orde

reaksi yang dapat ditentukan sebagai jumlah dari eksponen untuk masing-masing reaktan (Naomi *et al.*, 2013, Latupeirissaa dkk, 2018).

Laju dapat dipandang sebagai bertambahnya hasil reaksi atau berkurangnya pereaksi untuk setiap satuan waktu (Petrucci, 1992). Dengan demikian laju dalam hubungan dengan aktifitas anti bakteri dapat dipandang sebagai pertambahan diameter zona bening setelah selang waktu tertentu atau $r = \text{diameter zona bening (ZB)}/\text{satuan waktu (t)}$ dan karena waktu pengukuran zona bening adalah tetap maka:

$$\text{Jika } r = k [A]^n \rightarrow \text{ZB}/t = k [A]^n \dots\dots\dots(1)$$

karena k dan t adalah konstan maka kt juga akan bernilai konstan = k' yang merupakan tetapan yang berlaku untuk satuan waktu pengukuran zona bening yang dipilih berdasarkan referensi. akibatnya:

$$\text{ZB} = k'[A]^n \text{ maka: } \ln \text{ZB} = \ln k' + n \ln [A] \dots\dots\dots (2)$$

Berdasarkan hal-hal tersebut maka dapat dipandang bahwa laju identik dengan zona bening. Dari regresi linear akan diperoleh persamaan :

$$y = a+bx \text{ atau } \ln \text{ZB} = \ln k' + n \ln [A] \dots\dots\dots(3)$$

Hal ini berarti bahwa jika dibuat plot hubungan $\ln [A]$ terhadap $\ln \text{ZB}$ maka akan diperoleh

$$a = \ln k'$$

$$k' = e^a \text{ (berlaku untuk waktu inkubasi yang telah dipilih)}$$

$$b = n = \text{orde}$$

2.14. Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan yang mana analit-analit pada sampel terdistribusi antara 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak (Rohman, 2007). Kromatografi fase normal menggunakan fase diam polar seperti silika gel dan fase gerak nonpolar. Senyawa yang mempunyai kepolaran rendah akan terelusi terlebih dahulu. Kromatografi fase terbalik, menggunakan fase diam nonpolar dan dielusi dengan pelarut polar, senyawa dengan polaritas tinggi akan pertama kali muncul (Talamona, 2005). Adapun kromatografi yang dipakai pada penelitian ini yaitu kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom (KK).

2.14.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan sebuah metode yang digunakan untuk menentukan identitas dan kemurnian suatu senyawa. Kromatografi Lapis Tipis biasanya dilakukan menggunakan lapisan tipis adsorben (plat KLT). Prinsip dari kromatografi lapis tipis adalah suatu analit bergerak naik (melintasi fase diam) (paling umum digunakan silika gel), di bawah pengaruh fase gerak (biasanya campuran pelarut organik), yang bergerak melalui fase diam oleh kerja dari kapiler. Jarak pemindahan oleh analit tersebut ditentukan oleh afinitas relatifnya untuk fase diam dan fase gerak. Keunggulan dari KLT adalah fleksibel dalam mendeteksi hampir semua senyawa, bahkan beberapa senyawa anorganik, yang dapat didukung oleh penggunaan reagen penampak bercak. (Watson, 2010).

Pereaksi yang umum digunakan yaitu pereaksi serium sulfat. Pereaksi serium sulfat digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa organik dalam sampel dengan ditandai timbulnya noda berwarna coklat kehitaman. Pereaksi lain seperti pereaksi Dragendorff digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa alkaloid (N tersier) dalam campuran yang ditandai dengan timbulnya noda orange pada hasil uji KLT.

Fasa diam atau adsorben yang umum digunakan dalam KLT yaitu silika gel atau adsorben fase terbalik C18.

2.14.2. Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom digunakan untuk pemisahan campuran beberapa senyawa yang diperoleh dari hasil isolasi. Pemisahan dengan metode kromatografi kolom dilakukan dengan memanfaatkan sifat fisik dari komponen campuran tersebut, seperti kelarutan sampel, adsorpsi, dan kepolaran. Di dalam kolom akan terjadi kesetimbangan antara zat terlarut yang diadsorpsi adsorben dan pelarut yang mengalir melewati kolom, sehingga terjadi pola pemisahan dari masing-masing komponen senyawa berdasarkan sifat kepolarannya (Poole, 2009).

Proses dari kromatografi kolom yaitu terjadinya pemisahan komponen-komponen suatu zat pada eluen yang bergerak melalui fase diam sebagai adsorben, karena adanya perbedaan daya adsorpsi pada komponen-komponen tersebut. Fasa diam diisikan kedalam kolom gelas, sedangkan eluennya disesuaikan dengan sampel yang akan dilakukan pemisahan. Metode elusi ini dapat dilakukan dengan elusi isokratik atau elusi landaian. Elusi isokratik adalah adanya penggunaan eluen yang tidak berubah selama proses pemisahan berlangsung (Johnson and Stevenson. 1991).

2.15. *Submerged Fermentation* (SmF)

Submerged Fermentation (SmF) menggunakan substrat cair yang mengalir bebas, seperti molase dan kaldu. Senyawa bioaktif disekresikan ke dalam kaldu fermentasi. Substrat digunakan cukup cepat, oleh karena itu perlu terus-menerus diganti/ditambah dengan nutrisi. Teknik fermentasi ini paling cocok untuk mikroorganisme seperti bakteri yang membutuhkan kelembaban tinggi. Keuntungan tambahan dari teknik ini adalah pemurnian produk lebih mudah. *Submerged Fermentation* (SmF) terutama

digunakan dalam ekstraksi metabolit sekunder yang perlu digunakan dalam bentuk cair (Subramaniam dan Vimala, 2012).

Proses kultivasi dengan *Submerged Fermentation* ada yang namanya rasio padat-cair yang berbeda dipelajari untuk menilai beban padat maksimal yang dapat diperlakukan secara efektif untuk mendapatkan hidrolisat pekat. Selanjutnya, kandungan karbohidrat, protein dan lipid dalam total padatan tersuspensi (TSS) diukur sebelum dan sesudah fermentasi. Prosesnya lebih jauh dibandingkan dengan konvensional proses pengolahan limbah makanan: pengomposan, pencernaan anaerobik, pembuangan di tempat pembuangan akhir dan pembakaran (Pleissner *et al.*, 2014). Pada *submerged fermentation*, mikroorganisme ditumbuhkan pada substrat yang larut (xylan, pektin, mannan) atau tidak larut (dedak gandum, dedak padi, jerami gandum) yang dilarutkan atau direndam dalam media cair. SmF sangat penting selama beberapa tahun terakhir untuk produksi enzim dan metabolit sekunder pada skala industri karena kontrol yang ketat pada parameter fermentasi, produktivitas yang konsisten, dan pengolahan yang mudah (Vaidyanathan *et al.*, 1999).

2.16. Fourier Transform Infrared (FTIR)

Spektrofotometer inframerah merupakan instrumen yang digunakan untuk mengukur resapan radiasi inframerah pada berbagai panjang gelombang (Fessenden, 1982). Radiasi inframerah terletak pada spektrum elektromagnetik antara daerah visibel dan daerah *microwave* (gelombang mikro). Penggunaannya paling banyak untuk kimia organik pada batas panjang gelombang antara 4000 dan 400 cm^{-1} . Spektrum vibrasi tampak berupa pita. Ada dua tipe vibrasi molekuler yaitu *stretching* dan *bending*. Hanya vibrasi yang menghasilkan perubahan secara ritmik pada momen dipol yang diobservasi dalam IR (Silverstein, 2005).

Bilangan gelombang dari kitosan dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Bilangan Gelombang Kitosan (Dompeipen, 2017).

No.	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang(cm^{-1})	
		Kitosan Standar	Kitosan
1	O – H tumpang tindih , N – H	3377,95	3302,20
2	C – H alifatik	2922,85	3064,89
3	C – H alifatik	2922,80	2801,50
4	C-H aromatik	2361,41	2013,58
5	C = O [Amida sekunder]	1660,55	1666,30
6	C=O) Protonasi Amida sekunder	1587,94	1577,71
7	C-H	1422,73	1382,13
8	C-O	1259,54	1255,56
9	C–O	1154,64	1161,55
10	(C–O–C)	1077,93	1132,23
11	(C–O–C)	1026,63	1045,42
12	β -1,4-glikosidik	897,41	854,97

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Agustus 2022 sampai Mei 2023 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi (UPT LTSIT) dan Laboratorium Biopolimer Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Lampung. Analisis *Light Microscopy*, *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dan *Fourier Transform Infrared Spectrometer* (FT-IR) dilakukan di UPT LTSIT Universitas Lampung.

3.2. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas yang umum digunakan yaitu cawan petri, tabung reaksi *iwaki*, gelas beaker *iwaki* Erlenmeyer *iwaki*, kapas, kasa *onemed*, karet gelang, tisu, pinset, botol semprot, plastik *wrap*, plastik tahan panas, korek api, spidol, pensil, kertas label, indikator pH universal, spatula logam, batang pengaduk, jarum ose, lampu spiritus, mikropipet *biohit*, oven *jisico*, neraca analitik Kern 440-47N, *hot plate stirrer* Thermolyne, *autoclave* Tomy SX-700, *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Cary 630 (Agilent, Santa Clara, CA, United States) *laminar air flow*, inkubator Kaltis 499, Buchii/R210 *rotary evaporator*, mikroskop Zeiss axio *imager* A1, *Centrifuge* Hitachi CF 16RX II, dan Hospitex Plate Reader. Seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat

kaca alumuni silica gel DC kielsel 60 F254, lampu UV Kohler/SN402006, serta kolom kaca digunakan untuk pemurnian senyawa bioaktif, SEM EVO

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah aquades, agar *swallow*, glukosa, cangkang udang kering, media *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *malt extract*, *Tryptic Soya Broth* (TSB), *Tryptic Soya Agar* (TSA), metanol (MeOH) teknis, 12,5% metanol, dan *pro analysis*, asam asetat teknis, NaOH teknis, 2% DMSO, *dextrose*, 1% koloid kitin, air laut buatan, *buffer* fosfat (PbS), ketoconazole, kloramfenikol, dan akuades. kentang segar, dekstroza, alkohol 70%, etanol (EtOH) *pro analysis*, butanol (n- butanol) teknis, isopropil alcohol (IPA) teknis, diklorometana (DCM) teknis, n-heksana teknis, reagen visualisasi KLT meliputi $Ce(SO_4)_2$ (10% Ce(IV) dan 15% H_2SO_4 dalam akuades), Ninhidrin (2% ninhidrin dalam pelarut EtOH), dan dragendorff (stok 1 : Bismut nitrat 1,7 g dalam 80 mL air dan asam asetat glasial 20 mL; stok 2 : larutan KI (50% b/v, 100 mL) dengan asam asetat glasial), *forward primer*, *reverse primer*, ddH₂O, *Potato Dextrose Agar* (PDA) (2% NA dalam 100 mL ekstrak kentang segar), *Malt Extract Agar* (MEA (3% Malt, 0,4% Glukosa, dan 0,4% yeast extract dalam akuades)

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pembuatan Media Ekstrak *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Potato Dextrose Broth* (PDB), dan Malt Ekstrak

Media tumbuh yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Potato dextrose agar* (PDA) untuk proses peremajaan. Metode yang dilakukan mengacu dengan metode yang digunakan oleh Jumilatun dkk, (2020) dengan sedikit dilakukan modifikasi. Media dibuat dengan merebus 10 g kentang, dan melarutkan gula *dextrose* sebanyak 2 g serta melarutkan 3 g agar bubuk dengan 100 mL air sari rebusan kentang tersebut menggunakan labu Erlenmeyer dan dihomogenkan dan disetirilisasi menggunakan

autoclave. Kemudian 10 mL media steril dituangkan ke dalam cawan petri atau tabung reaksi kemudian media dibiarkan dingin hingga menjadi padat.

Media kultivasi yang digunakan adalah *malt* ekstrak dan *Potato Dextrose Broth* (PDB). Metode yang digunakan untuk membuat media *malt extract* mengacu dengan metode yang digunakan oleh Nguyen dkk, (2020) dengan sedikit dilakukan modifikasi. Media dibuat dengan melarutkan 2% ekstrak malt, 2% *glucose* dalam 100 mL air laut buatan yang sebelumnya sudah disterilkan menggunakan labu Erlenmeyer, selanjutnya media yang sudah tercampur disterilkan dalam *autoclave*. Kemudian untuk membuat media *Potato Dextrose Broth* (PDB) direbus 10 g kentang kemudian disaring dan air rebusan tersebut digunakan untuk melarutkan 2 g gula *dextrose* lalu dimasukkan dalam Erlenmeyer dan selanjutnya media disterilkan dalam *autoclave*.

3.3.3. Peremajaan

Peremajaan *fungi* dilakukan mengacu pada Barwant and Lavhate (2020) dengan sedikit modifikasi. *Fungi* diremajakan dengan mengggoreskan 1 ose biakan murni *fungi* secara aseptis pada media *Potato Dextrose Agar* kemudian disimpan pada suhu 27°C selama 14 hari dalam inkubator. Peremajaan bakteri patogen mengacu ada metode Wijayanti dkk, (2014) dimana 1 ose biakan murni bakteri patogen digoreskan secara aseptik menggunakan media *Tryptic Soya Agar* (TSA) yang kemudian disimpan pada suhu 37°C selama 12-18 jam dalam inkubator.

3.3.2. Biomaterial

Fungi yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari deposit UPT LTSIT yang sebelumnya telah diisolasi dari organisme laut meliputi spons, *tunicate*, mangrove. Isolat *fungi* yang digunakan diperoleh dari perairan Oluhuta Teluk Tomini,

Gorontalo , ($0^{\circ}25011.9''N123^{\circ}08031.8''E$) pada bulan September 2019 *Fungi* yang digunakan memiliki kode 19A15-RF dengan arti 19 menunjukkan tahun pengambilan sampel yaitu tahun 2019, A15 adalah kode spons yang berasosiasi dengan isolat, sedangkan R adalah Rosyidatul yang melakukan isolasi dan F adalah *Fungi*. Isolat ini merupakan salah satu isolat yang telah difilogenetik oleh Fadhilah, (2022) dengan spesies *Aspergillus ochraceus* . Tiga sampel isolat lainnya digunakan sebagai pembanding kitosan yang dihasilkan dari *fungi* 19A15RF yaitu sampel pertama dengan kode isolat 20BA0502-RF yang memiliki arti kode dimana 20 menunjukkan tahun pengambilan sampel, dan BA0502 adalah titik lokasi pengambilan, untuk R adalah Rosyidatul yang telah melakukan isolasi, serta F adalah *fungi*, Isolat tersebut telah difilogenetik dengan spesies *Aspergillus tamarii* dimana isolat ini diperoleh dari Taman Wisata Mangrove Pandan Alas, Sriminosari Lampung Timur ($5.317131,105.822518$) pada tahun 2020. Sedangkan untuk sampel kedua diambil dilokasi yang sama dengan kode isolat 20CD01-RF, dengan arti kode isolat dimana 20 menunjukkan tahun pengambilan sampel, CD01 adalah titik lokasi pengambilan, untuk R adalah Rosyidatul yang telah melakukan isolasi, serta F adalah *fungi*. Isolat tersebut telah difilogenetik oleh peneliti sebelumnya dimana didapatkan spesies *Aspergillus versicolor*. Sedangkan sampel ketiga yaitu isolat 21A2-A1 diperoleh dari ($5.571883^{\circ}LS 105.243494^{\circ}BT$) kawasan Wisata Mangrove Desa Gebang, Pesawaran, Lampung pada 2021. Sampel ketiga ini juga telah dilakukan identifikasi filogenetik oleh peneliti sebelumnya dan didapatkan spesies *Aspergillus nomiae*.

Fungi patogen *Malassezia globosa* yang digunakan untuk uji *time killing assay* terhadap kitosan dan ekstrak kasar *fungi*. *Fungi* ini yang didapatkan dari Laboratorium Parasitologi, Universitas Indonesia. Sedangkan untuk bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan untuk uji *time killing assay* dan *Minimum Concentration Inhibition* (MIC) terhadap kitosan dan ekstrak kasar *fungi* diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik, Rumah Sakit Abdul Moelok, Bandar Lampung.

3.3.4. Identifikasi Morfologi

Identifikasi *fungi* dilakukan menggunakan mikroskop Zeiss Axioo Imager A1 pada perbesaran 400 x, menggunakan metode cover slip 45° pada media koloid kitin agar. Selanjutnya Identifikasi morfologi lebih lanjut dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dilakukan berdasarkan identifikasi miselium dan ornamen spora. Inokulum *fungi* yang dipilih disiapkan dalam media cair *Potato Dextrose Broth* dan diinkubasi dalam kondisi statis. Setelah 7-14 hari, cangkang udang diletakkan di atas cawan petri bersih. (Setiawan *et al.*,2022).

3.3.5. Kultivasi pada Media Ekstrak *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan Malt Ekstrak

Proses persiapan inokulum isolat *fungi* dilakukan dengan cara menumbuhkan *fungi* pada media *Potato Dextrose Broth* (PDB) dan media *Malt Extract* yang meliputi malt dan glukosa yang dilarutkan dalam air laut buatan steril. Sebanyak 1 ose *fungi* diambil secara aseptis ke dalam 2 Erlenmeyer 100 mL berbeda yang masing-masing berisi 20 mL media dan selanjutnya diinkubasi selama 3 hari. Sebanyak 20 mL suspensi spora *fungi* diinokulasi ke dalam masing masing Erlenmeyer 2000 mL yang berisi 400 mL media *potato dextrose broth* dan media *malt extract* dan campurannya dikocok perlahan untuk menahan spora *fungi* di dalam air. Erlenmeyer yang sudah berisi media dan inokulum *fungi* tersebut ditempatkan di inkubator pada suhu 25°C selama 14 hari (Tan *et al.*,2020).

3.3.7. Ekstraksi Kitosan dari *Fungi*

Ekstraksi kitosan dari *fungi* mengacu pada jurnal Jebur *et al.*, 2019 yang menyebutkan bahwa Miselia *fungi* dikumpulkan dan diberi perlakuan (perlakuan alkali) dengan 1 N NaOH (1:40 b/v) berat kering miselia dan dihomogenkan selama 2

jam, kemudian dicuci dengan akuades sebanyak 4 kali, selanjutnya disaring sehingga diperoleh endapan. Endapan dilarutkan menggunakan 3% asam asetat dan dihomogenkan selama 2 jam kemudian disaring sehingga didapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 2 N NaOH dan disentrifugasi pada kecepatan 6000 rpm selama 5 menit. Endapan kitosan yang telah dipisahkan dicuci beberapa kali dengan akuades untuk menetralsasinya. Lalu metanol teknis digunakan untuk membilas kitosan.

Rendemen diperoleh dari jumlah berat kering kitosan (gr) yang terbentuk dari setiap jumlah berat kitosan kering yang diperoleh (gr), yang dapat dituliskan dengan rumus berikut.

$$\% \text{Rendemen} = \frac{\text{Massa kitosan kering (gr)}}{\text{Massa bahan baku kering (gr)}} \times 100\%$$

(Almukhtar *et al.*, 2020).

3.3.8. Skrining Aktivitas Antimikroba

Uji skrining bioaktivitas antimikroba dilakukan secara *microtiter plate assay* modifikasi *Clinical and Laboratory Standart Instituse* (CLSI), pada antibakteri, dan *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), 2003 pada antifungi. Pada uji antibakteri, secara singkat yaitu dengan menambahkan masing masing dalam wadah sumuran *well plate* 80 μL media *Tryptic Soya Broth* (TSB), selanjutnya dilakukan penambahan 20 μL sampel kitosan dan ekstrak kasar *fungi*. Kemudian ditambahkan 100 μL suspensi bakteri yang kekeruhannya sudah sesuai standar 0,5 McFarland (10^{-6} CFU/mL) serta selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diperiksa dinilai turbiditasnya pada OD 635nm. Pada uji antifungi, secara singkat yaitu dengan menambahkan masing masing dalam sumuran *well plate* 80 μL media *Potato Dextrose Broth* (PDB), selanjutnya dilakukan penambahan 20 μL sampel kitosan dan ekstrak kasar *fungi*. Kemudian ditambahkan

100 μL suspensi *fungi* yang kekeruhannya sudah sesuai standar 0,5 McFarland (10^{-6} CFU/mL) serta selanjutnya diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dan diperiksa nilai turbiditasnya pada OD 635 nm. Nilai turbiditas diamati menggunakan *hospitex plate reader* pada panjang gelombang $\lambda_{635\text{nm}}$. Perhitungan persen inhibisi sebagai berikut.

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

Penentuan senyawa aktif dilihat pertumbuhan mikroorganisme secara visual dengan penambahan 30 μL resazurin yang aseptik ke dalam pelat mikro. Inkubasi selanjutnya dilakukan selama 1 jam untuk melihat apakah sampel kitosan dan ekstrak kasar *fungi* apakah menghambat atau tidak ditandai dengan warna biru menunjukkan sampel kitosan dan ekstrak kasar *fungi* dapat menghambat mikroba sedangkan merah muda atau kuning menandai sampel kitosan dan ekstrak kasar *fungi* tidak dapat menghambat suatu mikroba.

3.3.9. Karakterisasi Kitosan menggunakan FTIR

Kitosan yang diperoleh dari hasil fermentasi *fungi* dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan menentukan derajat deasetilasi. *Scanning* dilakukan pada daerah frekuensi antara 4000 cm^{-1} sampai dengan 400 cm^{-1} . Derajat deasetilasi dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$\text{DD} = 100 - [(A_{1655}/A_{3450}) \times 100/1.33]$$

Dengan:

DD: Derajat Deasetilasi, A_{1655} Absorbansi pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} yang menunjukkan serapan karbonil dari amida. A_{3450} . Absorbansi bilangan gelombang

3450 cm^{-1} yang menunjukkan serapan hidroksil dan digunakan sebagai standar internal. Faktor 1,33 : Nilai perbandingan untuk kitosan yang terdeasetilasi 100% (Tan *et al.*, 2020).

3.3.10. Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis KLT untuk ekstrak isolat-isolat fungi yang diperoleh dilakukan menggunakan fase diam Silica Gel F254 nm dan variasi pelarut n-hexana dan EtOAc sebagai fase gerak. Hasil penotolan KLT diidentifikasi menggunakan UV 254 nm untuk penentuan senyawa ikatan rangkap terkonjugasi, $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$ sebagai reagen dalam memvisualisasi senyawa organik dan reagen spesifik Dragendorffs untuk senyawa alkaloid pada ekstrak *fungi*.

3.3.11. Identifikasi Morfologi Isolat Unggul

Identifikasi morfologi isolat unggul dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) sesuai dengan Widyastuti *et al.*, 2022. Mula-mula inokulum *fungi* (20 mL) dipersiapkan pada media PBD selama 7 hari. Kemudian dipersiapkan kulit udang steril yang telah dipotong persegi $1 \text{ cm}^2 \times 1 \text{ cm}^2$. Kulit udang dicelupkan pada inokulum *fungi* secara aseptis, dan kulit udang diinkubasi selama 7 hari. Selanjutnya dilakukan analisis SEM pada perbesaran 5 kx.

3.3.12. Kultivasi Skala Besar (*Scale Up*)

Kultivasi skala besar (5 L) dilakukan menggunakan wadah 2 L erlenmeyer yang berisi masing-masing 500 mL media PDB, dan diinkubasi selama 14 hari.

3.3.13. Pemurnian Senyawa dan Uji Bioautografi

Pemurnian senyawa bioaktif dilakukan secara *bioassay guidance isolation* dan pengujian aktivitas antimikroba secara KLT bioautografi pada fraksi hasil fraksinasi. Mula-mula komponen dipisahkan berdasarkan sifat kepolaran dengan partisi n-heksana dan metanol. Kemudian diuji bioautografi dengan cara menotolkan sampel pada plat SiO₂ dengan kondisi pelarut yang sesuai pada saat monitoring senyawa hasil pemisahan. Uji bioautografi dilakukan dengan persiapan biakan bakteri pada media MH selama 24 jam, kemudian dibuat inokulum pada media TSB 3% hingga kekeruhan mencapai 0,5 McFarland. Kemudian digoreskan inokulum bakteri secara aseptis pada media MH agar secara merata. Plat KLT dengan sampel yang telah dielusi, ditempatkan pada MH agar dengan posisi plat sampel menempel pada media agar. Lalu, disimpan dikulkas untuk proses difusi sampel selama 1 jam. Setelah itu, plat diambil dan cawan diinkubasi selama 18 jam untuk antibakteri dan 24-48 jam untuk antifungi. Fraksi aktif kemudian dimurnikan lebih lanjut dengan metode kolom kromatografi hingga diperoleh fraksi aktif.

3.3.14. Pemurnian Senyawa Metabolit dan Kitosan

Sebanyak 1 mg fraksi aktif dipersiapkan dan dianalisis dengan FTIR dengan metode plat KBr Scanning dilakukan pada bilangan gelombang antara 4000 cm⁻¹ sampai dengan 400 cm⁻¹.

Kitosan yang diperoleh dari hasil fermentasi *fungi* juga dilakukan karakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) untuk mengidentifikasi gugus fungsi dan menentukan derajat deasetilasi. *Scanning* dilakukan pada daerah frekuensi antara 4000 cm⁻¹ sampai dengan 400 cm⁻¹. Derajat deasetilasi dihitung dengan cara sebagai berikut :

$$DD = 100 - [(A_{1655}/A_{3450}) \times 100 / 1.33]$$

Dengan:

DD: Derajat Deasetilasi, A_{1655} serapan pada bilangan gelombang 1655 cm^{-1} yang menunjukkan serapan karbonil dari amida. A_{3450} . Serapan i bilangan gelombang 3450 cm^{-1} yang menunjukkan serapan hidroksil dan digunakan sebagai standar internal.

Faktor 1,33 : Nilai perbandingan untuk kitosan yang terdeasetilasi 100% (Tan *et al.*, 2020).

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, diperoleh simpulan sebagai berikut :

1. Ekstrak isolat *fungi* 19A15-RF pada media PDB memiliki potensi sebagai antibakteri dan antifungi.
2. Kitosan dari isolat *fungi* 19A15-RF , 20BA0501-RF, 20CD01-RF, dan 21A2A1 mampu menghambat bakteri *S.aureus* dan *P.aeruginosa*, serta *fungi* *M.globosa*.
3. Komponen pada ekstrak 19A15-RF yang dikultivasi pada PDB mengandung alkaloid.
4. Derajat deasetilasi (DD) kitosan yang berasal dari isolat *fungi* 19A15-RF sebesar 89,09%.
5. Rendemen kitosan yang berasal dari scale up isolat *fungi* 19A15-RF sebesar 11,125 %.

5.2. Saran

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

1. Perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut untuk mengetahui tentang kekuatan daya hambat kitosan dan ekstrak senyawa boaktif dalam pengujian sebagai antibakteri.

2. Perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut untuk optimasi dengan parameter fisik isolat *fungi* untuk memproduksi kitosan seperti pH dan temperatur inkubasi.
3. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut sebagai anticancer dan antioksidan terhadap senyawa metabolit dan kitosan dari isolat *fungi* 19A15-RF yang diperoleh.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, O. G., Hanna R. R., and Salman, Y. A. K. 2017. Structural, Optical, and Electrical Characterization of Chitosan: Methylcellulose Polymer Blends Based Film. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.* 28(14). 83-94.
- Abdel-Gawad, K. M., Hifney, A. F., Fawzy, M. A., and Gomaa, M. 2017. Technology optimization of Chitosan Production from *Aspergillus niger* Biomass and its Functional Activities. *Food Hydrocolloids.* 63(1).593-601.
- Abalaka, M. E., Daniyan S. Y., Oyeleke S. B., and Adeyemo S.O. 2011. Antibacterial Evaluation of *Moringa Oleifera* Leaf Extracts on Selected Bacterial Pathogens. *J of Microbiology Res.* 1(1).1-4.
- Afzal, H., Shazad, S. S. Qamar, and Nisa, U. 2013. Morphological Identification Of *Aspergillus* Species From The Soil of Larkana District (Sindh, Pakistan). *Asian J Agri Biol.* 1(3).105-117.
- Agusnar, H. 2006. Penggunaan Kitosan sebagai Bahan Penyalut Fiber Glass dan Filter Paper untuk Penyerap Logam Ni dan Cr dengan system Aquatic. *Disertasi.* USU Medan.
- Agustini, T. W., dan Sedjati, S. 2006. The Effect of Chitosan Concentration and Storage Time on the Quality of Salted –Dried Anchovy (*Stolephorus heterolobus*). *Journal of Coastal Development.* 10 (2).63.
- Al-Hatmi, A. Curfs-Breuker, I., Hoog, G. S., Meis, and J. F., Verweij, P. E. 2017. Antifungal Susceptibility Testing of *Fusarium A* practical approach. *J. Fungi.* 3(19).93-98.
- Almukhtar, J. G. J. and Karan, F. F. 2020. Preparation Characterization and Application of Chitosan Nanoparticles as Drug Carrier. *International Virtual Conference on Pure Science.*4). 2(1).11-13.
- Armaida, E. dan Khotimah, S. B. 2016. Karakterisasi Actinomycetes yang Berasosiasi dengan Porifera (*Axinella* spp.) dari Perairan Pulau Lemukutan Kalimantan Barat. *Jurnal Protobiont.* 5(1).87-90.

- Amirian, J., Xia, W., Liu, P., Cheng, Q., Tahirou, T., Gu, W., and Li, B. 2021. Chitosan Modification and Pharmaceutical/Biomedical Applications. *Marine drugs*. 8(7).1962-1987.
- Bano, V. S. dan Khakhim, N. 2016. Pemanfaatan Citra Penginderaan Jauh untuk Pemetaan Terumbu Karang di Teluk Tomini Bagian Kota Gorontalo. *jurnal Bumi Indonesia*. 5(3).79-85.
- Barwant, M. and Lavhate, N. 2020. Isolation and Maintenance of Fungal Pathogens *Aspergillus niger* and *Aspergillus flavus*. *International Journal of Applied and Natural Sciences*. 9(3).47-52.
- Belonoznikova, K., Hyskova, V., Chmelík, J., Kavan, D., Cerovska, N., and Ryslava, H. 2022. *Pythium Oligandrum* in Plant Protection and Growth Promotion: Secretion of Hydrolytic Enzymes, Elicitors and Tryptamine as Auxin Precursor. *Microbiological Research*. 12(6).76-79.
- Bode, H. B., Bethe, B., Hofs, R., and Zeeck, A. 2002. Big Effects from Small Changes Possible Ways to Explore Nature's Chemical Diversity. *Chem Bio Chem*. 3(7).19-27.
- Chatterjee, S., Adhya, M., Guha, A. K., and Chatterjee, B. P. 2005. Chitosan from *Mucor rouxii*: Production and Physico-Chemical Characterization. *Proc Biochem*. 40(1). 395-400
- Daveppa, V. J., Kipkoech, C., Njire, M., Were, S., Lagat, M. K., Ndwiga, F., and Tanga, C. M. 2021. Biocontrol Potential of Chitin and Chitosan Extracted from Black Soldier Fly Pupal Exuviae Against Bacterial Wilt of Tomato. *Microorganisms*. 10(1).165.
- Damare, S., Raghukumar, C., and Raghukumar, S. 2006. Fungi in deep-sea sediments of the Central Indian Basin. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*. 53(1).14-27.
- Djakatara, R. S., Wewengkang, D. S., dan Rotinsulu, H. 2019. Uji Aktivitas Antimikroba dari Jamur Laut yang Berasosiasi dengan Alga Halimeda *Opuntia*. *Pharmacon*. 8(1).41-50.
- Dima, L. L. R., Lolo, W. A., dan Fatimawali. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera L.*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pharmacon*. 5(2).
- Dompeipen, E. J. 2017. Isolasi dan Identifikasi Kitin dan Kitosan dari Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon*) dengan Spektroskopi Inframerah. *Majalah Biam*. 13(1).31-41.
- Dwijayanti, S. I. P., dan Pamungkas, G. S. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Tapak Dara (*Catharantus roseus (L.) G. Don.*) terhadap Bakteri

Staphylococcus aureus dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Biomedika*. 9(2).11-20.

- Eleftheriadou, I., Giannousi, K., Protonotariou, E., Skoura, L., Arsenakis, M., Dendrinou-Samara, C., and Sivropoulou, A. 2021. Cocktail of CuO, ZnO, or CuZn Nanoparticles and Antibiotics for Combating Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* via Efflux Pump Inhibition. *ACS Applied Nano Materials*. 4(9).97-98.
- Entjang, I. 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi untuk Akademi Keperawatan dan Sekolah Tenaga Kesehatan yang Sederajat*. Erlangga. Jakarta.
- Fadhilah, M. R. 2022. *Karakterisasi Kitosan dari Fungi *Aspergillus ochraceus* yang Berasosiasi dengan *Spons**. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
- Fessenden, R. J. dan Fessenden, J. S. 1982. *Kimia Organik, diterjemahkan oleh. Pudjaatmaka, A. H., Edisi Ketiga, Jilid 1*. Erlangga. Jakarta
- Fernández, M., Plessing, C. V. and Cardenas, G. 2006. Preparation and Characterization of Chitosan Gels. *J. Chil. Soc.* 5(1).22-24.
- Frank, A. G., Mendes, G. H., Ayala, N. F., and Ghezzi, A. 2019. Servitization and Industry 4.0 Convergence in the Digital Transformation of Product Firms: A Business Model Innovation Perspective. *Technological Forecasting and Social Chang.* 14(1).341-351.
- Gemala, A. M., and Suwondo, E. F., 2013. Chitosan Kills Bacteria through Cell Membrane Damage. *International Journal of Food Microbiology*. 95(2).147-155.
- Geiser, D. M. 1994. Cryptic speciation and recombination in the aflatoxin producing fungus *Aspergillus flavus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95(1).388-393.
- Gorler, A., Hengstenberg, W., Kravanja, M., Beneicke, W., Maurer, T., and Kalbitzer, H. R. 2019. Solution structure of the histidine-containing phosphocarrier protein from *Staphylococcus carnosus*. *Applied Magnetic Resonance*. 17(1).465-480.
- Ghozali, M. S. A. 2016. Uji In-vitro Ekstrak Daun Jarak Merah (*Jatropha gossypifolia* L.) sebagai Inhibitor α -Amilase *Doctoral dissertation*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. 8(3).22-25.
- Hadi, A. M., Irawati, M. H., dan Suhadi, S. 2016. Karakteristik Morfo-Anatomi Struktur Vegetatif Spesies *Rhizopora Apiculata* (Rhizoporaceae). *Jurnal Pendidika: Teori, Penelitian, dan Pengembangan* . 9(1).688-1692.

- Hafdani, F. N, and Sadeghinia, N. 2011. A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial. World Academy of Science. *J. Engineering and Technology*. 105(3).1-5.
- Handajani, N. S., dan Purwoko, T. 2008. Aktivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galaga*) terhadap Tertumbuhan Jamur *Aspergillus sp.* Penghasil Aflatoksin dan *Fusarium Moniliforme*. *Jurnal Biodiversitas*. 9(5).161-164.
- Hernandez-Luzardo, A. N., Miguel, G. V. V., and Maria, G. G. 2011. Current Status of Action Mode and Effect of Chitosan Against Phytophathogens Fungi. African. *Journal of Microbiology Research*. 5(25). 4243-4247.
- Hourston, D. J. and Reading, M. 2006. *Modulated Temperatur Differential Scanning Calorimetry Theoretical and Practical in Polymer Characterization*. Springer.
- Huiliu, Yumin, D., and Xiaohui, W., Liping, S. 2004. Chitosan Kills Bacteria through Cell Membrane Damage. *International Journal of Food Microbiology*. 95(2).147-155.
- Idris, S., Das, D., Dutta, P., Kalita, J., Wann, S. B., and Manna, P. 2021. Chitosan: A Promising Therapeutic Agent and Effective Drug Delivery System in Managing Diabetes Mellitus. *Carbohydrate polymers*. 247(1).116-594.
- Iskandar, Y. 2007. *Karakteristik Zat Metabolit Sekunder Dalam Ekstrak Bunga Krisan (Chrysanthemum cinerariaefolium) Sebagai Bahan Pembuatan Biopestisida*. FMIPA. Semarang.
- Jawetz, E., Melnick, J. L. and Adelberg, E. A. 2001. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Mikrobiology)*. Kedokteran EGC Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., and Adelberg, E. A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Salemba Medika. Jakarta.
- Jebur, H. A., Abdulateef, A. A., and Thbit, Z. A. 2019. Chitosan Production from *Aspergillus oryzae* SU-B2 by Submerged Fermentation and Studying Some of its Physiochemical and Antibacterial Characteristics. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 11(2).60-61.
- Joseph, B., Priya, and R. M. 2011. Bioactive Compound from Endophytes and Their Potential in Pharmaceutical Effect. *A Review, American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 1(3).291-309
- Johnson, E. L. and Stevenson, R. 1991. *Dasar Kromatografi Cair. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K.* Penerbit ITB. Bandung. Hal. 365.

- Jamilatun, M., Azzahra, N., dan Aminah, A. 2020. Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi Carrot Sucrose Agar dan Potato Dextrose Agar. *Jurnal Mikologi Indonesia*. 4(1).71-76.
- Kacombo, A. C. 2018. Uji Aktivitas Antimikroba Jamur Laut yang Berasosiasi dengan Spons Aaptos-Aaptos. *J.Pharmacon*. 7(4).66-71.
- Kadim, M. K., and Arsad, S. 2016. Distribution and Abundance of Microalgae Based on Coastalcharacteristic and Ecology in Bone Bolango Coastal Region. *Asian Journal ofMicrobiology Biotechnology and Environmental Sciense*. 18(2).115-121.
- Kannan, M., Nesakumari, M., Rajarathinam, K., and Singh, A. J. A. R. 2010. Production and characterization of mushroom chitosan under solid-state fermentation conditions. *Advances in Biological Research*. 4(1).10-13.
- Kawaroe, M., Madduppa, H., dan Prabowo, R. E. 2014. *Karakteristik morfologi teritip spons Indonesia*. Erlangga. Jakarta
- Khan, T. A., Peh, K. K., dan Chang, H. S. 2002. Reporting Degree of Deacetylation Values of Chitosan; The Influence of Analytical Methods. *J. Pharm. Sci* 5(3).205-212.
- Killay, A. 2013. Kitosan sebagai Antibakteri pada Bahan Pangan yang Aman dan Tidak Berbahaya. *Prosiding FMIPA Universitas Pattimura*.
- Klomklao, S., Benjakul, S., Visessanguan, W., Kishimura, H., and Simpson, K. B. 2007. Extraction of Carotenoprotein from Black Tiger Shrimp Shells with Heaid of Bluefish Trypsin. Thailand. *Journal of Food Biochemistry*. 5(2).201-217.
- Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., and Park, H. J. 2010. Antimicrobial Properties of Chitosan and Mode of Action: A state of the art review. *Journal Food Microbiol*. 144(1).51-63.
- Kolte, S. J. 2019. *Diseases of annual edible oilseed crops*. volume I. peanut diseases. CRC press.
- Ke, Y., Ding, B., Zhang, M., Dong, T., Fu, Y., Lv, Q., .and Wang, X. 2022. Study on Inhibitory Activity and Mechanism of Chitosan Oligosaccharides on *Aspergillus Flavus* and *Aspergillus Fumigatus*. *Carbohydrate Polymer*. 27(5).118-673.
- Latupeirissa, J., Tanasale, M., and Musa, S. 2018, Kinetika Adsorpsi Zat Warna Metilen Biru Oleh Karbon Aktif Dari Kulit Kemiri (*Aleurites Moluccana* (L) Willd), Indo. *J. Chem. Res*. 6(1).524-533.

- Mardy, D. C., Sudjari, S., dan Rahayu, S. I. 2016. Perbandingan Efektivitas Kitosan (2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucopyranose) dan Nano Kitosan terhadap Pertumbuhan Bakteri *Enterococcus faecalis* secara In Vitro. *Majalah Kesehatan FKUB*. 2(4).229-240.
- Mariska, N. 2018. *Pembuatan Nanopartikel dari Ekstrak Etanol Daun Pugun Tanah (Picria fel-terrae Lour) dan Uji Antibakteri terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Mario, F., Rapana, P., Tomati, U., dan Galli, E. 2008. Chitin and chitosan from basidiomycetes. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43(2).8-12.
- McMurry, J. 2008. *Organic Chemistry in Seventh edition*. Hlm. 425;448;458.
- Murdiyah, S. 2017. Fungi Endofit Pada Berbagai Tanaman Berkhasiat Obat di Kawasan Hutan Evergreen Taman Nasional Baluran dan Potensi Pengembangan Sebagai Petunjuk Praktikum Mata Kuliah Mikologi. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 3(1).1-10.
- Mizana, D. K., Suharti, N., dan Amir, A. 2016. Identifikasi Pertumbuhan Jamur *Aspergillus sp* pada Roti Tawar yang dijual di Kota Padang berdasarkan Suhu dan Lama Penyimpanan. *Jurnal Kesehatan Andalas*. 5(2).132-136.
- Mukhlis, D. K., Rozirwan, R., dan Hendri, M. 2018. Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Jamur Endofit pada Mangrove *Rhizophora apiculata* dari Kawasan Mangrove Tanjung Api-Api Kabupaten Banyuasin Sumatera Selatan. *Maspri Journal Marine Science Research*. 10(2).151-160.
- Mohammad, P. B., and Wright, P. C. 2006. 'The Current Status of Natural Products from Marine Fungi and Their Potential As Anti-infective Agents. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 33(5).123-127.
- Motomasa, K. 1998. Search for Biologically Active Substances from Marine Sponges. In: *Prosiding Seminar Bioteknologi I (R. R. eds.)*. Puslit Oseanologi LIPI. Jakarta
- Murni, Widayati, W., and Mey, D. 2018. Analisis Pengembangan Ekowisata mangrove Kota Kendari. *Jurnal Perencanaan Wilayah*. 6(8).23-29.
- Muzzarelli, R. A. A., Ravi, K. M. N. V., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., and Domb, A. J. 2013. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. *Chemical Reviews*. 10(4).12.

- Naomi, P., Anna, M., Lumban, G. M., dan Yusuf, T. 2013. Pembuatan Sabun Lunak dari Minyak Goreng Bekas Ditinjau dari Kinetika Reaksi Kimia. *Jurnal Teknik Kimia*. 2(19).42-48.
- Natsir, M., Sadhotomo, B., dan Wudianto, W. 2017. Pendugaan Biomassa Ikan Pelagis di Perairan Teluk Tomini Dengan Metode Akustik Bim Terbagi. *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*. 11(6).101-107.
- Nguyen, T. M., and Ranamukhaarachchi, S. L. 2020. Effect of Different Culture Media, Grain Sources and Alternate Substrates on the Mycelial Growth of *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 23(3).223-230.
- Nurulita, Y., Yuharmen, Y., Nenci, N., Mellani, A. O., dan Nugroho, T. T. 2020. Metabolit Sekunder Sekresi Jamur *Penicillium spp.* Isolat Tanah Gambut Riau sebagai Antijamur *Candida albicans*. *Chimica et Natura Acta*. 8(3).133-143.
- No, H. K., N. Y., Park, S. H. L., and Meyer, S. P. 2002. Antibacterial Activity of Chitosans and Chitosan Oligomers with Different Molecular Weight. *International. J. of Food Microbiol.* 74(4).65-72.
- Noor, Y. R., and Khazali, M. 2012. *Panduan Pengenalan Mangrove di Indonesia*. PKA/WI-IP Wetlands International-Indonesia Programme.
- Nwe, N., Tamura, H., and Furuike, T. 2010. *Production of fungal chitosan by enzymatic method and applications in plant tissue culture and tissue engineering: 11 years of our progress, present situation and future prospects*. In Elnashar M. (Ed.), *Biopolymers*. InTech Publisher. Shanghai.
- Oktavianti, D. 2021. Strategi Pengembangan Ekowisata Mangrove Desa Sriminosari Labuhan Maringgai Lampung Timur. *Fisheries Of Wallacea Journal*. 2(2).64-69.
- Qi, D. F. Z., Zou, L. P., Chen, D. B., Gao, Y. F., Feng, Z. F., Zhang, R. J., Li, M. K., Xie., and Wang, J. W. 2019. Taxonomy and Broad-Spectrum Antifungal Activity of *Streptomyces sp.* SCA3-4 Isolated from Rhizosphere soil of *Opuntia stricta*. *Front. J. Microbiol.*, 10(1)39-43.
- Poole, C. 2009. *Handbook of Methods and Instrumentation in Separation Science: Volume 1 (Vol. 1)*: Academic Press.
- Pleissner, D., Kwan, T. H., and Lin, C. S. K. 2014. Fungal Hydrolysis in Submerged Fermentation for Food Waste Treatment and Fermentation Feedstock Preparation. *J. Bioresource Technology*. 15(8). 48-54.

- Purwanti, A. 2014. Evaluasi Proses Pengolahan Limbah Kulit Udang untuk Meningkatkan Mutu Kitosan yang dihasilkan. *Jurnal Teknologi*. 7(1).83-90.
- Rendowaty, A., Akmal, D., dan Handayani, D. 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.
- Rhoades and Roller. 2000. Antimicrobial Actions of Degraded and Native Chitosan Against Spoilage Organisms in Laboratory Media and Foods. *Appl Enviro Microbiol*. 66(1).80-86.
- Riski, R. 2015. Formulasi Krim Anti Jerawat Dari Nanopartikel Kitosan Cangkang Udang Windu (*Penaeus monodon*), *Jf fik uinam*..3(1).4. STIFA Makassar.
- Rismana. 2006. Serat Kitosan Mengikat Lemak. Pusat P2 Teknologi farmasi dan medika, BPTT. Jakarta.
- Rudramurthy, S. M., Honnavar P., Dogra, P. S., Yegneswaran, P. P., Handa, S., and Chakrabarti, A. 2014. Association Of Malassezia Species with Dandruff. *Indian J Med Res*. 13 (9).431-437.
- Reuhs, B. L. 2017. High Performance Liquid Chromatography. *Food Analysis*. 3(5).213-226.
- Rogis A., Tunjuung, P., dan Mucharromah. 2007. Karakterisasi dan Uji Efikasi Bahan Senyawa Alami Kitosan terhadap Patogen Pascapanen Antak nosa *Colleotrichum musae*. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. 9(1).58-63.
- Romadhoni, F. 2017. Pengaruh ekstrak kacang-kacangan pada fermentasi terendam oleh jamur *aspergillus niger* terhadap kitosan yang dihasilkan. *Jurnal pangan dan teknologi*. 12(1).40.
- Safitri, G. L., Wibowo, A., dan Idiawati, N. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Buret) Terhadap Bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Salmonella Thypi*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 6(1).34-37.
- Sanjaya, I. dan Yuanita, L. 2007. Adsorpsi Pb (II) oleh Kitosan Hasil Isolasi Kitin Cangkang Kepiting Bakau (*Scylla sp.*) *Jurnal Ilmu Dasar*. 8(1).30-36.
- Schwartz, J. R., Messenger, A. G., Tosti, A., Todd, G., Hordinsky, M., Hay, R. J., Wang, X., Zachariae, C., Kerr, K. M., Henry, J. P., Rust, R. C., and Robinson, M. K. 2012. A Comprehensive Pathophysiology of Dandruff and Seborrheic dermatitis - Towards A More Precise Definition of Scalp Health. *ActaDermVenereol*. 92(3).1-10.

- Setiawan, A. Setiawan, F. Juliasih, N. L. G. R., Widyastuti, W., Laila, A., Setiawan, W. A., Djailani, F. M., Mulyono, M., Hendri, J., and Arai, M. 2022. Fungicide Activity of Culture Extract from *Kocuria palustris* 19C38A1 against *Fusarium oxysporum*. *J. Fungi*. 8(1).280.
- Sharif, M. A., Kumer, A., Ahmed, M. B., and Paul, S. 2018. Chitosan is A New Target of Chemical Replacement to Formalin in Food Preservative. *IJCS*. 6(1).757-760.
- Silverstein, R. M. 2005. Spectrometric Identification of Organics Compounds. John Wiley and Sons, Inc. New Jersey. *J.pharmaceutics*. 7(3).40.
- Subramaniam, R., and Vimala, R. 2012. Solid State and Submerged Fermentation for the Production of Bioactive Substances A Comparative Study. *Int J Sci Nat*. 3(3).480-486.
- Sugita, P., dan Tuti, W. 2009. *Sumber Biomaterial Masa Depan. Kitosan*. IPB Press. Bandung.
- Sukmawati, D., Wahyudi, P., Rahayu, S., Moersilah, M., Handayani, T., Rustam, K. Y., dan Puspitasari, S. I. 2018. Skrining Kapang *Aspergillus sp.* Penghasil Aflatoksin pada Jagung Pipilan di daerah Bekasi, Jawa Barat. *J.Al-Kauniyah*. 11(2).151-162.
- Suerni, E., Alwi, M., dan Guli, M. M. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Buah Nanas (*Ananas comosus L. Merr.*), Salak (*Salacca edulis Reinw.*) dan Mangga Kweni (*Mangifera odorata Griff.*) terhadap Daya Hambat *Staphylococcus aureus*. *J. Biocelebes*. 7(1).15-21.
- Soelama, H. J., Kepel, B. J., dan Siagian, K. V. 2015. Uji Minimum Inhibitory Concentration (MIC) Ekstrak Rumput Laut (*Euclima cottonii*) sebagai Antibakteri terhadap *Streptococcus mutans*. *J. e-GiGi*. 3(2).45-51
- Sivashankari, P. R. and Prabakaran, M. 2017. Deacetylation Modification Techniques of Chitin and Chitosan. *Chitosan Based Biomaterials*. 1(3).117-133.
- Syahrurachman, A. 2010. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Bina Rupa Aksara Jakarta.
- Synoweicki, J., and Al-Khateeb N. A. A. Q. 1997. Mycelia of *Mucor rouxii* as a Source of Chitin and Chitosan. *Food Chem*. 60(1).605-610.
- Tan, Y. N., Lee, P. P., and Chen, W. N. 2020. Dual Extraction of Crustacean and Fungal Chitosan from a Single *Mucor circinelloides* Fermentation. *J.pharmaceutics*. 6(2).40.

- Tan, S. C., Tan, T. K., Wong, S. M., and Khor, E. 1996. The Chitosan Yield of Zygomycetes at Their Optimum Harvesting Time, *Carbo polym.* 30(2).239- 242.
- Triyono, B. S., dan Iqmal, T. 1998. *Buku Ajar Kinetika Kimia, Jurusan Kimia.* FMIPA UGM. Yogyakarta.
- Tumangger, B. S., Nadilla, F., Baiduri, N., Fitriani, and Mardina, V. 2018. In Vitro Screening of Endophytic Fungi Associated with Mangroveas Biofertilizer on the Growth of Black Rice (*Oryza sativa* L. "Cempo Ireng"). *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* 34(3).4200-12080.
- Tolaimate, A., Desbrieres, J., Rhazi, M., and Alagui, A. 2003. Contribution to the preparation of chitin and chitosans with controlled physic-chemical properties. *Poly.* 44(3).7939-7952.
- Vaidyanathan, S., Macaloney, G., Vaughan, J., McNeil, B., and Harvey, L. M., 1999. Monitoring of Submerged bBoprocesses. *Critical Reviews in Biotechnology.* 19(4).277-316.
- Vennewaldi and Wollina. 2005. Cutaneous Infections due to Oppotunistic Molds : Uncommon Presentations Otomycosis. *Clinics in Dermatology.* 23(3).56-57.
- Wang, M., Zhang, Y., Wang, R., Wang, Z., Yang, B., and Kuang, H. 2021. An Evolving Technology That Integrates Classical Methods with Continuous Technological Developments: Thin-Layer Chromatography Bioautography. *Molecules (Basel, Switzerland).* 26(15).4647.
- Watson, D. G. 2010. Analisis farmasi Edisi 2. EGC. Jakarta. Hal 210.
- Wardaniati, R. A. dan Sugiyani, S. 2009. Pembuatan Chitosan dari Kulit Udang dan Aplikasinya untuk Pengawetan Bakso. *Makalah Penelitian.* UNDIP.
- Wulandari, N. 2008. Uji Antibakteri Kitosan Dari Kulit Udang Windu (*Penaeus monodon*) dengan Metode Difusi Cakram Kertas. *Seminar Tugas Akhir S1 Jurusan Kimia* FMIPA UNDIP.
- Waluyo, A. 2004. Analisis Masalah Keperawatan pada Klien Keganasan Hematologi yang Mendapatkan Terapi Medik Kemoterapi. *Jurnal Keperawatan Indonesia.* 8(1)1-7.
- Wijayati, N., Astutiningsih, C., dan Mulyati, S. 2014. Transformasi α -Pinena dengan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika: Journal of Biology and Biology Education.* 6(1).24-28.

- Yusron, E. dan Edward. 2000. *Kondisi Perairan dan Keanekaragaman Hayati di Perairan Teluk Tomini Sulawesi* .Widyasari Press. Salatiga
- Zhan, W., Zhang, J., and Xia, W. 2014. Effect of Ball Milling Treatment on Physicochemical and Structural Properties of Chitosan. *International Journal of Food Properties*. 2(5).26-37.
- Zheng, L. Y. and Zhu, J. F. 2002. Study on Antimicrobial Activity of Chitosan with Different Molecular Weights. *J. Carbohydrate Polimers*. 54(4).527- 530.
- Zubair, A. dan Muslikh, A. R.2017. Identifikasi Jamur Menggunakan Metode K-Nearest Neighbor dengan Ekstraksi Ciri Morfologi. *In Seminar Nasional Sistem Informasi (SENASIF)*. 1(1).95-97.
- Zore, G. B., Thakre, A. D., Rathod, V., and Karuppayil, S. M. 2011. Evaluation of Anti-Candida Potential of Geranium Oil Constituents Against Clinical Isolates of *Candida albicans* Differentially Sensitive to Fluconazole: Inhibition of Growth, Dimorphism and Sensitization. *Mycoses*. 54(4).99-109.