

**AKTIVITAS FUNGISIDA DARI ISOLAT *ACTINOMYCETES* 19C38A1
GORONTALO HASIL FERMENTASI PADA BEBERAPA MEDIA**

(Skripsi)

Oleh

**ANNISA LARASATI
NPM 1817011019**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

AKTIVITAS FUNGISIDA DARI ISOLAT *ACTINOMYCETES* 19C38A1 GORONTALO HASIL FERMENTASI PADA BEBERAPA MEDIA

Oleh

Annisa Larasati

Sebagian besar budidaya pertanian sering sekali terkena penyakit tanaman yang disebabkan oleh jamur patogen seperti *Fusarium oxysporum*. Mikroorganisme *Actinomycetes* bisa menjadi solusi karena dapat menghasilkan senyawa bioaktif seperti alkaloid yang dapat digunakan sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antifungi dari isolat *Actinomycetes* 19C38A1 terhadap jamur patogen *Fusarium oxysporum*. Berdasarkan hasil identifikasi morfologi, isolat *Actinomycetes* 19C38A1 termasuk dalam spesies *Streptomyces*. Penelitian ini dilakukan dua metode yaitu *Solid State Fermentation* (SSF) pada media kulit udang dan *Liquid State Fermentation* (LSF) pada media koloid kitin. Pada hasil skrining aktivitas antifungi, senyawa metabolit yang dihasilkan oleh isolat berpotensi sebagai antifungi terhadap *Fusarium oxysporum* dengan nilai hambatan sebesar 47% pada kondisi optimum hari ke-6 dan pH 6 di media kulit udang dan 50% pada kondisi optimum hari ke-10 dan pH 6 di media koloid kitin. Pada hasil uji KLT, isolat diprediksi menghasilkan beberapa komponen seperti asam amino yang ditandai dengan warna merah muda keunguan ketika direaksikan dengan pereaksi ninhidrin dan adanya komponen alkaloid yang ditandai dengan bercak oranye ketika direaksikan dengan reagen Dragendroff. Berdasarkan hasil karakterisasi FTIR, isolat diprediksi mampu menghasilkan senyawa alkaloid di media koloid kitin pada puncak serapan 3444.1 cm^{-1} dimana terdapat gugus O-H (alkohol atau fenol) atau N-H (amina atau amida). Sedangkan pada media kulit udang, isolat menghasilkan senyawa alkaloid pada serapan 3205.5 cm^{-1} .

Kata kunci : *Fusarium oxysporum*, *Actinomycetes*, *Streptomyces*, alkaloid, antifungi

ABSTRACT

FUNGICIDAL ACTIVITY OF ISOLATACTINOMYCETES 19C38A1 GORONTALO RESULTING FROM FERMENTATION IN SEVERAL MEDIA

By

Annisa Larasati

Most agricultural crops are often affected by plant diseases caused by pathogenic fungi such as *Fusarium oxysporum*. Actinomycetes microorganisms could be a solution because they can produce bioactive compounds such as alkaloids which can be used as antimicrobials. This study aims to analyze the antifungal activity of the Actinomycetes 19C38A1 isolate against the pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Based on the results of morphological identification, the Actinomycetes 19C38A1 isolate belongs to the *Streptomyces* species. This research carried out two methods, namely Solid State Fermentation (SSF) on shrimp shell media and Liquid State Fermentation (LSF) on colloidal chitin media. In the results of the antifungal activity screening, the metabolite compounds produced by the isolates have potential as antifungals against *Fusarium oxysporum* with an inhibition value of 47% at the optimum conditions on day 6 and pH 6 in shrimp shell media and 50% at optimum conditions on day 10 and pH 6 in colloidal chitin media. In the TLC test results, the isolate was predicted to produce several components such as amino acids which were marked with a purplish pink color when reacted with ninhydrin reagent and the presence of alkaloid components which were marked with orange spots when reacted with Dragendroff's reagent. Based on the results of FTIR characterization, the isolate is predicted to be able to produce alkaloid compounds in chitin colloid media at an absorption peak of 3444.1 cm^{-1} where there are O-H (alcohol or phenol) or N-H (amine or amide) groups. Meanwhile, in shrimp shell media, the isolate produced alkaloid compounds at an absorption of 3205.5 cm^{-1} .

Key words: *Fusarium oxysporum*, Actinomycetes, *Streptomyces*, alkaloids, antifungal

**AKTIVITAS FUNGISIDA DARI ISOLAT *ACTINOMYCETES* 19C38A1
GORONTALO HASIL FERMENTASI PADA BEBERAPA MEDIA**

Oleh

ANNISA LARASATI

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
2024**

Judul Skripsi

: **AKTIVITAS FUNGISIDA DARI ISOLAT
ACTINOMYCETES 19C38A1 GORONTALO
HASIL FERMENTASI PADA BEBERAPA
MEDIA**

Nama Mahasiswa

: **Annisa Larasati**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **1817011019**

Program Studi

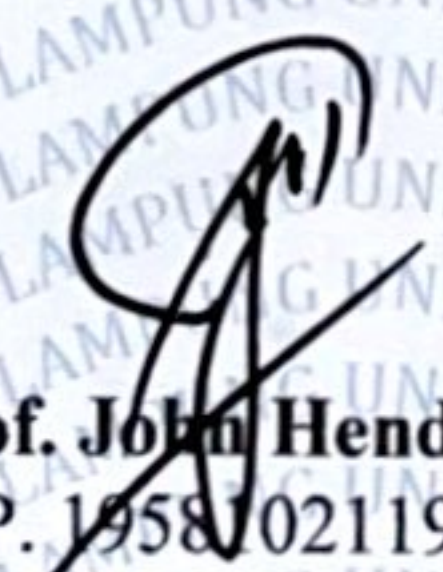
: **Kimia**

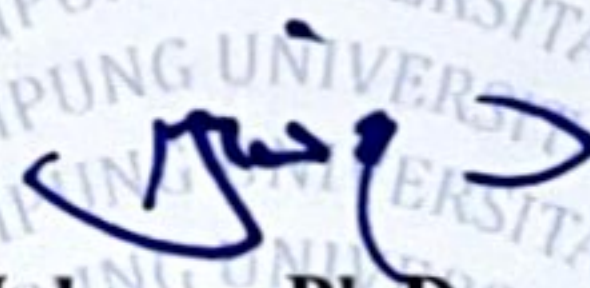
Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. **Komisi Pembimbing**


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


Mulyono, Ph.D.
NIP. 197406112000031002

2. **Ketua Jurusan Kimia FMIPA**


Dr. Mita Rilyanti, M.Si
NIP. 197205302000032001

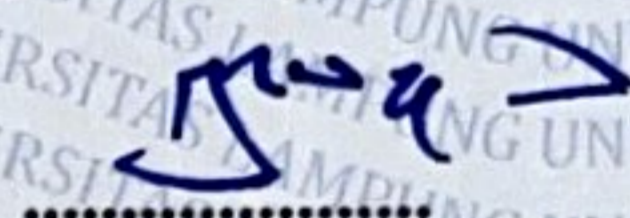
MENGESAHKAN

1. **Tim penguji**

Ketua : Prof. John Hendri, Ph.D.



Sekretaris : Mulyono, Ph.D.



**Penguji
Bukan Pembimbing : Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**



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



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 06 November 2024

**SURAT PERNYATAAN
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Annisa Larasati
Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011019
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul **“Aktivitas Fungisida Dari Isolat *Actinomyces* 19C38A1 Gorontalo Hasil Fermentasi Pada Beberapa Media”** adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data di dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi, sepanjang nama saya disebutkan dan terdapat kesepakatan sebelum dilakukan publikasi.

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

Bandar Lampung, 25 November 2024
Yang menyatakan,



Annisa Larasati
NPM.1817011019

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Annisa Larasati yang dilahirkan di Gula Putih Mataram (GPM) pada tanggal 09 Juli 2000. Penulis merupakan putri dari pasangan Bapak Agus Darsono dan Ibu Harneli, dan merupakan anak ketiga dari tiga bersaudara. Penulis memiliki satu kakak laki-laki dan satu kakak perempuan.

Penulis telah mengawali pendidikan di Taman Kanak-Kanak (TK) Gula Putih Mataram (GPM) pada tahun 2005-2006. Kemudian, melanjutkan pendidikan di SD Swasta 01 GPM dan lulus pada tahun 2012. Penulis melanjutkan pendidikan kembali di SMP GPM dan lulus pada tahun 2015. Penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas pada tahun 2015 di SMA Swasta Sugar Group dan lulus pada tahun 2018. Pada tahun 2018, 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 mengawali kegiatan organisasi kampus pada tahun 2018 sebagai Kader Muda Himaki Unila. Kemudian pada tahun 2019, penulis menjadi anggota pengurus Himaki pada biro Badan Usaha Mandiri

(BUM). Penulis juga pernah mengikuti kegiatan Karya Wisata Ilmiah yang diadakan oleh BEM FMIPA Unila pada tahun 2019 dan kegiatan Kunjungan Industri yang diadakan Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) pada tahun 2019.

Pada Tahun 2021, penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di desa Karang Sari, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan. Penulis juga melakukan Praktik Kerja Lapangan (PKL) pada tahun 2021 di Laboratorium Biopolimer dan di Unit Pelaksanaan Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) FMIPA Universitas Lampung. Selanjutnya, penulis melakukan penelitian pada tahun 2022-2023 di Laboratorium Biopolimer dan di Unit Pelaksanaan Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT-LTSIT) FMIPA Universitas Lampung dengan judul “Aktivitas Fungisida Dari Isolat *Actinomyces* 19C38A1 Gorontalo Hasil Fermentasi Pada Beberapa Media”.

MOTTO

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(QS. Al-Insyirah: 5-6)

“Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kesanggupannya.”

(Q.S. Al-Baqarah: 286)

"Boleh jadi kamu membenci sesuatu padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi pula kamu menyukai sesuatu padahal ia amat buruk bagimu, Allah mengetahui sedang kamu tidak mengetahui."

(QS Al-Baqarah: 216)

“Tidak ada kata terlambat dalam hidup, semua orang punya waktunya masing-masing untuk mencapai garis *finish*.”

“Jangan bandingkan proses dan pencapaianmu dengan orang lain. Karena tak semua bunga tumbuh mekar bersamaan.”

“Jika doaku tidak bisa terkabul, maka kabulkan lah doa orang tua ku.”

“Semua yang aku capai bukan untukku ya Allah, melainkan untuk kedua orang tuaku.”

“It Will Pass”

(Rachel Venya)

PERSEMBAHAN



Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih Lagi Maha Penyayang

Dengan mengucap Alhamdulillahirobbil‘alamin puji syukur kehadiran Allah SWT Yang Maha Pengasih dan Maha Penyayang atas limpahan Rahmat dan Karunia-Nya.

Dengan segenap rasa syukur yang luar biasa, ku persembahkan karya sederhana ini sebagai wujud cinta, bakti, dan tanggung jawabku kepada:

Orang Tuaku Tercinta

Bapak Agus Darsono dan Ibu Harneli

Yang selalu memberikan cinta dan kasih sayang yang tulus, merawat, mendidik, mendoakan, menguatkan, mendukung, menyemangati, serta berjuang dan berkorban tiada henti untuk anaknya.

Kedua kakakku tersayang,

Rizky Arie Kurniawan dan Cita Fitria Ramadhani Putri

Yang selalu menyayangi dan mendukung apa yang telah menjadi pilihan adiknya.

Dengan segala rasa hormat kepada

Bapak Prof. John Hendri, Ph.D., Bapak Mulyono, Ph.D., Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., serta seluruh Dosen Jurusan Kimia yang telah membimbing dan mendidikku selama menempuh pendidikan sarjana di Jurusan Kimia Universitas Lampung.

Sahabat-sahabatku dan teman-teman terdekatku yang selama ini telah mendukung, mendoakan, membantu, dan memberikan semangat.

Almamater tercinta Universitas Lampung.

Diriku sendiri yang telah berjuang selama ini.

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji dan syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya yang senantiasa dilimpahkan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Aktivitas Fungisida Dari Isolat *Actinomyces* 19C38A1 Gorontalo Hasil Fermentasi Pada Beberapa Media”** sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana sains (S.Si) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa penyelesaian skripsi ini tidak dapat terwujud tanpa adanya bimbingan, bantuan, dukungan, arahan, serta doa dari orang tua, saudara, dan teman-teman baik secara moril ataupun materil. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati serta teriring doa penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas kenikmatan dan karunia yang telah diberikan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. Kedua orang tuaku tercinta, Bapak Agus Darsono dan Ibu Harneli yang selalu memberikan kasih sayang, doa yang tiada henti, nasihat, serta dukungan moral maupun finansial sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Terima kasih atas segala perjuangan, pengorbanan dan keikhlasan yang telah diberikan kepada penulis. Semoga Allah SWT membalas segala jasa Bapak dan Ibu, selalu diberikan kesehatan, perlindungan, kebahagiaan dunia akhirat dan umur yang panjang sehingga dapat selalu mendampingi penulis hingga sukses dan seterusnya.
3. Kakakku dan mbaku tersayang, Rizky Arie Kurniawan dan Cita Fiiitria Ramadhani Putri, terima kasih atas segala kasih sayang sedari aku kecil,

terima kasih atas bantuan, dukungan, semangat, saran, motivasi, nasihat dan doa yang telah diberikan. Selalu mendukung apapun yang telah menjadi pilihan penulis. Semoga kita semua menjadi anak yang sukses, membanggakan, dan bisa membahagiakan kedua orang tua kita, *aamiin*.

4. Keponakanku tersayang, Muhammad Alfarezel Qaddafi, Sandyakala Narendra, Zivanna Inayra Alfathunnisa, dan Rayshaka Pramudya terima kasih telah menghibur dan mewarnai hariku dengan semua kegemasan dan tingkah lucu kalian. Semoga kalian menjadi anak yang berbakti kepada orang tua dan sukses ya.
5. *Someone Special*, Lutfi Ahmad Fauzi terima kasih karna selalu ada disaat penulis merasa tidak baik-baik saja, menjadi pendengar yang baik dan tempat berkeluh kesah, selalu membantu, mendukung, memberikan kasih sayang, semangat, nasihat, doa, dan saling menguatkan satu sama lain. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan penulis hingga saat ini. Semoga segala hal baik dan segala yang kamu dan kita inginkan bisa terwujud, *aamiin*. Kita usahakan ke Swiss, Finland, dan Disneyland itu ya!
6. Bapak Prof. John Hendri, Ph.D. selaku pembimbing I yang telah memberikan segala ilmu, membimbing, dan memberikan saran sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
7. Bapak Mulyono, Ph.D. selaku pembimbing II yang telah membimbing, memberikan saran dan nasihat hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D. selaku dosen penguji yang telah memberikan ilmu, arahan, saran dan kritik sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
9. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan serta saran selama masa perkuliahan.
10. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si selaku ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah membantu, memberi masukan dan saran positif sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
11. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si selaku sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Unila.

12. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
13. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah mendidik dan memberikan ilmu yang bermanfaat kepada penulis selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung.
14. Seluruh staf dan administrasi Jurusan Kimia FMIPA Unilay yang telah membantu dalam sistem akademik dan penelitian selama penulis menjadi mahasiswa.
15. Sahabat-sahabat terbaik penulis : Winda Kartika Dewi, Ferdika Nur Azizah, Yola Feby Anzani, dan Maya Wirlinda Kurniawati yang telah memberikan banyak dukungan, semangat, saling berbagi canda tawa, keluh kesah, emosi, saling merangkul, dan menguatkan. Terima kasih karna selalu ada disaat senang maupun sedih dan disaat penulis membutuhkan bantuan. Terima kasih karna sudah hadir di kehidupan penulis dan terima kasih untuk diri kita karna bisa bertahan dan berjuang sampai sejauh ini. Semoga ikatan silaturahmi ini dapat selalu terhubung dan tetap menjadi sahabat *till Jannah*. Semoga kita menjadi orang yang sukses, dikelilingi orang-orang baik, selalu bahagia dan semoga *healing* kita ke luar negeri bisa segera terwujud, *aamiin*.
16. Sahabat-sahabat penulis selama masa perkuliahan : Afifa Nabilla Mutiq, Dwi Noviani, Annida Rezani, dan Antin Sri Prihatin yang telah sangat membantu selama masa perkuliahan, memberikan banyak dukungan, semangat, menghibur, tempat saling berbagi canda tawa dan keluh kesah, saling menguatkan dan saling berjuang di labnya masing-masing. Meskipun jalan kita berbeda-beda, semoga kelak kita menjadi orang-orang sukses dan bisa berkumpul bersama lagi. Terima kasih telah berproses bersama dan menjadi bagian dalam perjuanganku selama menempuh masa perkuliahan.
17. Rekan penelitian seperbimbingan “John Hendri *Research*”, Larasati Gadis Ermadi yang telah banyak membantu, menasehati, memberikan dukungan dan semangat kepada penulis selama penelitian.
18. Rekan penelitian selama di laboratorium : Firda Tiara Rochman dan Irma Fitria Ananda yang telah membantu dan saling memberikan dukungan selama penelitian.

19. Rekan seperjuangan di titik terakhir : Indah Permatasari Eka Putri dan Ika Wahyu Lestari yang telah banyak membantu, memberikan saran, semangat, menjadi pengingat dikala penulis lengah akan banyak hal dan saling menguatkan satu sama lain untuk tetap bertahan dan kuat mental agar bisa segera mendapatkan gelar S.Si.
20. Rekan-rekan di UPT-LTSIT dan Laboratorium Biopolimer : Kak Fendi, Mba Nafila, Chasya, Indra, Lanang, Anggi, Wulan, Fani, Dea, Fauzia, Reyzka, Mega, Ibnu, Adel, Datun, Silvi, Mba Caca, Kak Rizky, Mba Merriezka, Kak Ridho, Mba Gab, Mba Saras, Kak Ikrom, Mba Rana, Mba Aisyah, Mba Zara, Mba Rosyi, Mba Iacun, Kak Mumu, Mba Widya, Ibu Layla, Mba Azizah, dan Mba Nia.
21. Rekan-rekan Kimia'18 yang telah membantu selama menjadi mahasiswa dan telah memberikan banyak kenangan.
22. Almamater tercinta Universitas Lampung.
23. Semua pihak terkait yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dan mendukung penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT membalas segala amal kebaikan kalian, *amiin*.
24. Teruntuk diriku sendiri yang selama ini telah berjuang sejauh ini sehingga bisa sampai di titik ini. Terima kasih sudah berusaha memberikan yang terbaik, memilih untuk tidak menyerah, berusaha untuk tetap kuat dan bertahan apapun kondisinya. Semoga segala perjuangan ini dapat menjadi awal yang baik dan menjadi bekal untuk masa yang akan datang. Terima kasih diriku, kamu hebat *I'm so proud of you!*

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan dan masih jauh dari kata sempurna. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi orang banyak, khususnya bagi yang membacanya.

Bandar Lampung, Desember 2024

Penulis,

Annisa Larasati

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR ISI	xvi
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
I. PENDAHULUAN	20
1.1 Latar Belakang	20
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Penapisan (<i>Screening</i>)	4
2.2 <i>Actinomycetes</i>	4
2.3 Fungisida	6
2.4 Kulit Udang dan Turunannya	7
2.5 <i>Fusarium oxysporum</i>	8
2.6 <i>Solid State Fermentation</i> (SSF).....	9
2.7 <i>Liquid State Fermentation</i> (LSF)	10
2.8 KLT	10
2.9 FTIR	11
III. METODE PENELITIAN	13
3.1 Waktu dan Tempat	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Prosedur Penelitian.....	14
3.3.1 Persiapan Sampel Kulit Udang dan Koloid Kitin.....	14
3.3.2 Penapisan dan peremajaan Isolat <i>Actinomycetes</i> 19C38A1	15

3.3.3 Identifikasi Isolat <i>Actinomyces</i>	15
3.3.4 Skrining Aktivitas Kitinolitik (Zona Bening).....	15
3.3.5 Pembuatan Inokulum <i>Actinomyces</i> 19C38A1	15
3.3.6 Kultivasi <i>Actinomyces</i> 19C38A1 Secara <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) Pada Media Kulit Udang	16
3.3.7 Kultivasi <i>Actinomyces</i> 19C38A1 Secara <i>Liquid State Fermentation</i> (LSF) Pada Media Koloid Kitin	17
3.3.8 Uji Skrining Aktivitas Antifungi	18
3.3.9 Analisis KLT	18
3.3.10 Analisis <i>Fourier Transformed Infrared</i> (FTIR)	19
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Persiapan Sampel Kulit Udang dan Koloid Kitin	20
4.2 Penapisan dan Peremajaan Isolat <i>Actinomyces</i> 19C38A1	412
4.3 Identifikasi Isolat <i>Actinomyces</i>	22
4.4 Skrining Aktivitas Kitinolitik (Zona Bening)	23
4.5 Pembuatan Inokulum <i>Actinomyces</i> 19C38A1	24
4.6 Kultivasi <i>Actinomyces</i> 19C38A1 Secara <i>Solid State Fermentation</i> (SSF) Pada Media Kulit Udang	25
4.6.1 Variasi Waktu	25
4.6.2 Variasi pH	26
4.7 Kultivasi <i>Actinomyces</i> 19C38A1 Secara <i>Liquid Fermentation</i> (LSF) Pada Media Koloid Kitin	27
4.7.1 Variasi Waktu	27
4.7.2 Variasi pH	28
4.8 Uji Skrining Aktivitas Antifungi	29
4.9 Analisis KLT	31
4.10 Analisis FTIR	33
4.10.1 Koloid Kitin	33
4.10.2 Kulit Udang	34
V. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan.....	36
5.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	44

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Nilai % Inhibisi Secara SSF Dengan Variasi Waktu	30
2. Nilai % Inhibisi Secara LSF Dengan Variasi Waktu	30
3. Nilai % Inhibisi Secara SSF Dengan Variasi pH.....	31
4. Nilai % Inhibisi Secara LSF Dengan Variasi pH.....	31
5. Nilai Rf Pada Sampel.....	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur Kitin	8
2. Hasil Dari Proses Demineralisasi.....	20
3. Hasil Dari Proses Deproteinasi	21
4. Hasil Koloid Kitin.....	22
5. Isolat 19C38A1 Pada Media Koloid Kitin.....	22
6. Hasil Identifikasi Isolat 19C38A1 Menggunakan Mikroskop <i>Axio Zeiss</i> Imager A1	23
7. Hasil Pertumbuhan Zona Bening Isolat 19C38A1 Pada Media Kulit Udang Selama 14 Hari.....	24
8. Hasil Pertumbuhan Inokulum Isolat 19C38A1 Pada Media Koloid Kitin Selama 14 Hari.....	24
9. Hasil Kultivasi Isolat 19C38A1 (a) hari ke 2 (b) hari ke 4 (c) hari ke 6 (d) hari ke 8 (e) hari ke 10 (f) hari ke 12 (g) hari ke 14.....	26
10. Hasil Kultivasi Isolat 19C38A1 (a) pH 6 (b) pH 7 (c) pH 8.....	27
11. Hasil Kultivasi Isolat 19C38A1 (a) hari ke 2 (b) hari ke 4 (c) hari ke 6 (d) hari ke 8 (e) hari ke 10 (f) hari ke 12 (g) hari ke 14.....	28
12. Hasil Kultivasi Isolat 19C38A1 (a) pH 6 (b) pH 7 (c) pH 8.....	29
13. KLT Pada Media Koloid Kitin dan Kulit Udang (a) dengan pereaksi $Ce(SO_4)_2$, (b) dengan pereaksi ninhidrin, (c) dengan pereaksi Dragendroff ..	32
14. Spektrum IR Media Koloid Kitin.....	33
15. Spektrum IR Media Kulit Udang	35

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman budidaya pertanian sering sekali terkena berbagai macam penyakit tanaman yang sebagian besar disebabkan oleh jamur. Tak jarang penyakit pada tanaman tersebut dapat mengakibatkan kerusakan yang besar sehingga menimbulkan kerugian. Penyakit dapat terjadi apabila ada interaksi antara tanaman, lingkungan, dan patogen (Nurhayati, 2011). Salah satu mikroorganisme patogen adalah jamur *Fusarium oxysporum* yang menyerang tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*). Jamur ini dapat menyebabkan penyakit layu Fusarium (Abdel *et al.*, 2021). Jamur ini juga menjadi penyebab utama turunnya produktivitas komoditas pertanian seperti pisang dan tanaman berbasis sereal (Cheng *et al.*, 2022).

Industri pertanian seringkali mengendalikan penyakit pada tanaman menggunakan pestisida, dimana bahan tersebut mengandung senyawa yang dapat berdampak negatif terhadap kesehatan manusia (baik petani maupun konsumen) dan dapat menyebabkan pencemaran lingkungan (Ons *et al.*, 2020). Oleh karena itu, dilakukan pengendalian penyakit tanaman yang ramah lingkungan, sehingga tidak membahayakan organisme hidup dan ekosistem (Rajmohan *et al.*, 2020).

Alternatif pengendalian penyakit pada tanaman yang ramah lingkungan adalah dengan menggunakan fungisida alami yang berasal dari mikroorganisme *Actinomycetes*. *Actinomycetes* menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang

memiliki aktivitas biologi beragam seperti antibakteri, antifungi, antioksidan, antitumor, dan antivirus (Al-Ansari *et al.*, 2019). Salah satu contoh *Actinomycetes* yang dapat menghasilkan senyawa bioaktif sebagai antimikroba adalah *Streptomyces* (Benhadj *et al.*, 2018). Senyawa yang dihasilkan ini seperti Amfoterisin B, nistatin, dan natamisin dapat digunakan sebagai antijamur untuk mengobati kandidiasis (Siemieniuk *et al.*, 2019).

Produksi senyawa bioaktif dari *Actinomycetes* dapat dipengaruhi oleh media yang digunakan. Pemanfaatan limbah kulit udang dapat digunakan sebagai alternatif teknologi untuk menggantikan bahan kimia berbahaya, dan menjadi metode yang memiliki peluang dalam produksi senyawa bioaktif dari *Actinomycetes* (Setiawan *et al.*, 2021). Hasil turunan dari kulit udang yang berupa kitin dapat dimanfaatkan sebagai sumber nitrogen dalam proses fermentasi (Cheba *et al.*, 2018).

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan isolat 19C38A1 yang berasal dari perairan Gorontalo. Menurut Setiawan *et al.*, (2022) isolat 19C38A1 secara filogenetik merupakan jenis *Kocuria palustris* yang menghasilkan senyawa golongan azol, dimana senyawa tersebut menjadi salah satu obat antijamur yang banyak digunakan dalam pengobatan dermatofitosis. Azol merupakan senyawa sintesis yang dapat digolongkan menjadi imidazol atau triazole (Goodman *et al.*, 2008). Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antifungi terhadap jamur patogen *Fusarium oxysporum* pada media kulit udang dan koloid kitin dengan cara isolat 19C38A1 tersebut diisolasi dan kemudian dikultur selama 14 hari. Setelah itu, dilakukan ekstraksi dan uji aktivitas antijamur dengan menggunakan metode microtiter 96-well plate, dan selanjutnya dianalisis dengan KLT serta FTIR.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antijamur terhadap jamur *Fusarium oxysporum* dari isolat 19C38A1.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi bahwa isolat 19C38A1 dapat dimanfaatkan sebagai antijamur.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penapisan (*Screening*)

Penapisan (*screening*) adalah metode yang dilakukan untuk memilih sesuatu keunggulan dari sebuah objek. Metode ini memiliki peran utama dalam pemilihan mikroorganisme spesifik. Ada 2 jenis penapisan, yaitu penapisan primer dan penapisan sekunder. Penapisan primer adalah uji kualitatif dengan menyaring populasi organisme yang besar secara langsung atau tidak langsung untuk kegiatan spesifik tertentu. Sedangkan penapisan sekunder adalah uji kualitatif dan kuantitatif dengan tujuan untuk menentukan secara tepat aktivitas organisme, memverifikasi produksi atau degradasi senyawa, dan untuk mengevaluasi produksi potensial dari organisme yang telah teridentifikasi dari penapisan primer (Steele and Stowers, 1991).

2.2. *Actinomycetes*

Actinomycetes merupakan bakteri gram positif, aerob dan memiliki bentuk sel berfilamen yang banyak dijumpai di tanah. Menurut Saini *et al.*, (2015) *Actinomycetes* mampu menghasilkan eksoenzim yaitu enzim hidrolase yang dapat berperan dalam membantu pencernaan pada udang (Mazón-Suástegui *et al.*, 2020), sehingga dapat dijadikan sebagai probiotik dalam budidaya akuakultur. *Actinomycetes* juga mampu menghasilkan senyawa antimikroba dan dapat memproduksi enzim hidrolase yang bermanfaat dalam menghambat infeksi

bakteri patogen pada budidaya udang (Berna *et al.*, 2015). Salah satu spesies *Actinomycetes* yang berpotensi dijadikan sebagai probiotik yaitu *Streptomyces* sp. Spesies ini diketahui mampu menghambat infeksi bakteri patogen (Arifiyanto *et al.*, 2020) dan memiliki kemampuan sebagai antivirus (Lakshmi *et al.*, 2013).

Salah satu anggota *Actinomycetes* terutama genus *Streptomyces* memiliki rantai spora pada hifa aerial dan memiliki miselium yang lengkap, kelimpahan miselium yang tinggi dan rantai sporanya panjang. Spora tersusun dalam bentuk kumparan yang menggulung atau berpilin. Ada juga yang berbentuk untaian panjang melengkung. Rantai spora *Streptomyces* sangat jelas terlihat pada pengamatan mikroskopik, karena memiliki bentuk yang khas. Hifa vegetatif memproduksi miselium bercabang sangat banyak dan jarang yang berfragmen dengan diameter 0,5–2 μm serta memiliki spora nonmotil (Nurkanto, 2007).

Actinomycetes kebanyakan ditemukan pada substrat alam seperti tanah, air, dan kolonisasi tanaman (Rahman *et al.*, 2011). Sejumlah besar *Actinomycetes* yang telah terisolasi dan disaring dari tanah mampu menghasilkan 70-80% metabolit sekunder (Khanna *et al.*, 2011). *Actinomycetes* dapat juga ditemukan di berbagai lingkungan ekologi, seperti air laut (Patil *et al.*, 2010), rizosfer rumput teki (*purple nut sudge*) (Ambarwati *et al.*, 2012).

Senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* memiliki aktivitas antagonis terhadap bakteri maupun jamur. Salah satu kelompok mikroorganisme yang berpotensi sebagai agen pengendali hayati dari *Actinomycetes* adalah genus *Streptomyces*. *Streptomyces* yang diujikan secara *in vitro* dapat menghambat pertumbuhan jamur anggota spesies *Fusarium oxysporum* hingga 82%. Hasil penelitian yang telah dilakukan Ali *et al.*, (2018), menunjukkan bahwa *Streptomyces spp* memiliki potensi sebagai antifungi pada penyakit layu fusarium. Sedangkan hasil penelitian yang telah dilakukan Nurkanto *et al.*, (2012), menunjukkan bahwa *Actinomycetes* memiliki aktivitas antifungi.

2.3 Fungisida

Fungisida adalah jenis pestisida yang secara khusus dibuat dan digunakan untuk mengendalikan (membunuh, menghambat atau mencegah) jamur atau cendawan patogen penyebab penyakit. Bentuk fungisida bermacam-macam, ada yang berbentuk serbuk, cair, gas dan butiran. Fungisida yang berbentuk serbuk dan cair adalah yang paling banyak digunakan. Fungisida dalam bidang pertanian digunakan untuk mengendalikan cendawan pada benih, bibit, batang, akar, daun, bunga dan buah. Aplikasinya dilakukan dengan penyemprotan langsung ketanaman, injeksi batang, pengocoran pada akar, perendaman benih dan pengasapan (fumigan) (Sudarmo, 1991).

Menurut Sudarmo (1991) fungisida dapat diklasifikasikan menjadi dua golongan berdasarkan bahannya, yaitu:

1. Fungisida Sintetis/Kimia

Fungisida sintetis atau fungisida kimia adalah fungisida yang dibuat dari bahan-bahan kimia sintetis. Fungisida ini memiliki efek negatif dan berbahaya bagi manusia, hewan dan lingkungan, terlebih jika digunakan dalam jangka panjang.

2. Fungisida Alami/Organik/Nabati

Fungisida alami atau fungisida organik adalah fungisida yang terbuat dari bahan-bahan alami yang banyak tersedia di alam. Fungisida ini relatif lebih aman digunakan karena tidak mengandung bahan kimia berbahaya.

Penggunaan fungisida nabati selain dapat menghambat perkembangan penyakit juga aman bagi konsumen dan lingkungan karena mudah terurai dan tidak meninggalkan residu pada produk pertanian (Sudarmo, 2005). Dilaporkan oleh McGrath (2004) bahwa fungisida memegang peranan penting dalam pengendalian penyakit tanaman. Aktar *et al.*, (2009) menyebutkan bahwa kerugian secara ekonomi yang cukup besar dapat dialami ketika fungisida tidak digunakan dalam kegiatan budidaya tanaman.

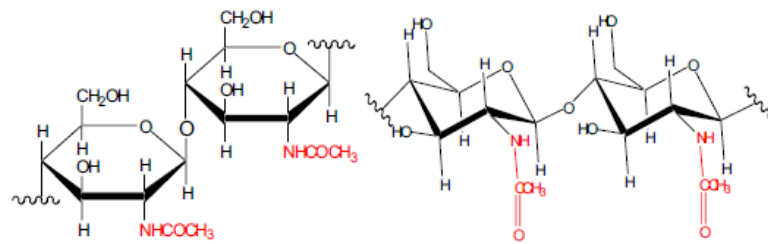
2.4 Kulit Udang dan Turunannya

Kulit udang merupakan salah satu golongan hewan crustaceae yang mengandung konstituen utama yang terdiri atas protein 25-40%, kalsium karbonat 45-50%, dan kitin 15-30%, tetapi besarnya kandungan tersebut tergantung pada jenis udangnya (Marganov, 2003).

Kulit udang dan cangkang kepiting limbah seafood merupakan sumber pembuatan kitin dan kitosan. Kitin berasal dari bahasa Yunani chitin, yang berarti kulit kuku. Kitin dapat berasal dari komponen utama dari eksoskeleton invertebrata, crustacea, insekta, dan juga dinding sel dari fungi dan yeast dimana komponen ini berfungsi sebagai komponen penyokong dan pelindung (Marganov, 2003).

Kitin merupakan bahan organik utama terdapat pada kelompok hewan crustaceae, insekta, fungi, mollusca dan arthropoda. Cangkang kepiting, udang dan lobster telah lama diketahui sebagai sumber bahan dasar produksi kitin, karena kandungan kitinnya cukup tinggi. Cangkang kering arthropoda rata-rata mengandung 20-50% kitin (Suhardi, 1993). Kitin juga diketahui terdapat pada kulit siput, kepiting, kerang, dan bekicot (Stephen, 1995).

Kitin adalah senyawa yang stabil terhadap reaksi kimia, rendahnya reaktivitas kimia, tidak beracun (*non toxic*) dan bersifat *biodegradable*. Kitin tidak larut dalam air (bersifat hidrofobik), dalam alkohol serta tidak larut dalam asam maupun alkali encer (Taufan & Zulfahmi, 2010). Kitin hanya dapat larut dalam pelarut asam mineral pekat seperti HCl (Herdyastuti *et al.*, 2009). Kitin merupakan homopolimer dari residu N-asetil-D-glukosamin yang terikat melalui ikatan β -1,4 glikosidik (Ichaidar, 2013). Struktur kitin dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Struktur Kitin

(Aniek, 2000).

2.5 *Fusarium oxysporum*

Spesies *Fusarium oxysporum* terwakili dengan baik di antara komunitas jamur tular tanah di setiap jenis tanah seluruh dunia (Burgess, 1981). Spesies ini juga dianggap konstituen normal dari komunitas jamur di rizosfer tanaman (Gordon & Martyn, 1997). Semua strain dari *F. oxysporum* bersifat saprofit dan mampu tumbuh dan bertahan hidup untuk waktu yang lama pada bahan organik di dalam tanah dan di rizosfer dari banyak spesies tanaman (Garrett, 1970). Beberapa strain dari *F. oxysporum* bersifat patogen bagi tanaman yang berbeda jenis, mereka menembus ke dalam akar yang menyebabkan busuk akar atau trakeomikosis ketika mereka menyerang sistem vaskular. Banyak galur lain dapat menembus akar, tetapi tidak menyerang sistem vaskular atau menyebabkan penyakit (Olivain & Alabouvette, 1997).

Menurut Semangun (2007), gejala permulaan yang ditimbulkan oleh serangan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* adalah tulang daun pucat terutama daun sebelah atas, kemudian diikuti merunduknya batang, dan akhirnya tanaman menjadi layu secara keseluruhan. Kelayuan seringkali diikuti klorosis daun, terutama daun pada bagian bawah. Pada tanaman muda, dapat menyebabkan tanaman mati secara mendadak karena pada pangkal batang terjadi kerusakan. Sastrahidayat (1990) menyatakan bahwa *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dapat bertahan lama dalam tanah, sehingga tanah yang sudah terinfestasi sukar

dibebaskan kembali dari jamur ini. Jamur menginfeksi akar melalui luka, kemudian menetap dan berkembang di berkas pembuluh.

2.6 *Solid State Fermentation (SSF)*

Fermentasi padat (*Solid State Fermentation*, SSF) didefinisikan sebagai proses fermentasi di mana mikroorganisme tumbuh pada bahan padat tanpa adanya cairan bebas. Konsep penggunaan substrat padat mungkin merupakan metode tertua yang digunakan manusia untuk membuat mikroorganisme bekerja untuknya. Dalam beberapa tahun terakhir, SSF telah menunjukkan banyak harapan dalam pengembangan beberapa bioproses dan produk. Namun, SSF juga memiliki beberapa kelemahan. Ada beberapa proses di mana fermentasi solid state tidak dapat digunakan seperti pada fermentasi bakteri (Channel dan Moo Young, 1980).

Solid State Fermentation (SSF) merupakan teknik umum untuk produksi metabolit mikroba. SSF merupakan teknologi yang mudah dilakukan, hemat biaya, dan memiliki efisiensi yang tinggi untuk produksi metabolit. Dalam proses SSF, ada banyak faktor yang perlu diperhatikan agar produksi metabolit oleh suatu mikroorganisme berlangsung dengan baik. Beberapa faktor tersebut diantaranya yaitu pH, suhu, inokulum, media fermentasi, agitasi, udara, mikro dan makronutrien, karena mempengaruhi proses SSF secara signifikan. Selain itu, komposisi kimia, ukuran partikel, porositas substrat, dan kelembaban substrat memainkan peran penting pada proses SSF (Srivastava *et al.*, 2019). Substrat harus memiliki kelembaban yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan aktivitas metabolisme mikroorganisme (P. Nigam, 2009).

2.7 Liquid State Fermentation (LSF)

Fermentasi media cair (*Liquid State Fermentation*, LSF) didefinisikan sebagai proses penumbuhan mikroorganisme dalam larutan yang mengandung semua nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan (Kavanagh, 2005). Fermentasi cair memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan fermentasi padat, yaitu siklus produksi yang pendek, efisiensi produksi yang tinggi, kualitas produk yang stabil dan pemisahan produk yang mudah (Zhao *et al.*, 2023). Produk fermentasi cair dapat dibagi menjadi miselium dan cairan ekstraseluler yang sebagian besar mengandung asam amino, vitamin, polisakarida, triterpena, protein, alkaloid, glikosida, sterol, flavonoid, dan antibiotik. Produk-produk ini memiliki banyak aktivitas biologis seperti imunoregulasi, antitumor, antivirus, antioksidan, antipenuaan, hipoglikemik, penurun lipid, dll (Wei *et al.*, 2022).

2.8 KLT

Kromatografi lapis tipis adalah suatu metode pemisahan yang menggunakan plat atau lempeng kaca yang sudah dilapisi adsorben yang bertindak sebagai fase diam. Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu metode pemisahan dan alat uji senyawa kimia secara kualitatif maupun kuantitatif. Senyawa yang di uji dapat berupa senyawa tunggal maupun senyawa campuran dari produk pabrik, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan maupun dari tanaman dan mikroorganisme. Prinsip kerjanya memisahkan sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut yang digunakan. Teknik ini biasanya menggunakan fase diam dari bentuk plat silika dan fase geraknya disesuaikan dengan jenis sampel yang ingin dipisahkan. Semakin dekat kepolaran antara sampel dengan eluen maka sampel akan semakin terbawa oleh fase gerak tersebut. Kromatografi lapis tipis adalah metode pemisahan fitokimia atau merupakan salah satu metode identifikasi awal untuk menentukan kemurniaan senyawa yang dapat menentukan jumlah senyawa dari ekstrak kasar metabolit sekunder (Merck, E dan Frankfrut, 1984).

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah salah satu teknik kromatografi yang didasarkan pada prinsip adsorbs, perbedaannya dengan kromatografi kolom yaitu konfigurasi KLT yang berbentuk planar (plate). Fase diam yang digunakan berupa padatan yang diaplikasikan dalam bentuk datar pada permukaan kaca atau aluminium sebagai penyangganya. Sedangkan fase gerak berupa cairan seperti yang digunakan dalam kromatografi kolom dan kromatografi kertas (Rubiyanto, 2017).

Kelebihan KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaan. Keserbagunaan KLT adalah bahwa selain selulosa, sejumlah penyerap lain dapat disaputkan dengan pelat kaca atau penyangga lain, meskipun silika gel yang paling banyak digunakan, kecepatan KLT dipengaruhi oleh sifat penjerap yang lebih padat bila disaputkan pada pelat. Kekurangan KLT adalah kerja penyaputan pelat kaca dengan penyerap, bubuk silika gel yang harus dikocok kuat-kuat tiap jangka waktu tertentu, pengeringan pada suhu kamar dan pengkatifan dengan pemanasan pada suhu 100-110°C selama 30 menit (Harborne, 2006).

2.9 FTIR

Fourier Transformed Infrared (FTIR) merupakan salah satu alat atau instrument yang dapat digunakan untuk mendeteksi gugus fungsi, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran dari sampel yang dianalisis tanpa merusak sampel. Daerah inframerah pada spektrum gelombang elektromagnetik dimulai dari panjang gelombang 14000 cm^{-1} hingga 10^{-1} . Berdasarkan panjang gelombang tersebut daerah inframerah dibagi menjadi tiga daerah, yaitu IR dekat (14000-4000 cm^{-1}) yang peka terhadap vibrasi overtone, IR sedang (4000-400 cm^{-1}) berkaitan dengan transisi energi vibrasi dari molekul yang memberikan informasi mengenai gugus-gugus fungsi dalam molekul tersebut, dan IR jauh (400-10 cm^{-1}) untuk menganalisis molekul yang mengandung atom-atom berat seperti senyawa anorganik tapi butuh teknik khusus (Schechter, 1997; Griffiths dan Chalmers, 1999).

Prinsip kerja FTIR adalah interaksi antara energi dan materi. Inframerah yang melewati celah ke sampel, dimana celah tersebut berfungsi mengontrol jumlah energi yang disampaikan kepada sampel. Kemudian beberapa inframerah diserap oleh sampel dan yang lainnya di transmisikan melalui permukaan sampel sehingga sinar inframerah lolos ke detektor dan sinyal yang terukur kemudian dikirim ke komputer dan direkam dalam bentuk puncak-puncak (Thermo, 2001).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juni 2022 sampai Desember 2023 di Laboratorium UPT-LTSIT Universitas Lampung dan Laboratorium Biopolimer Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas yang umum digunakan (gelas beaker, erlenmeyer, gelas ukur, labu evaporator), cawan petri, kapas, kasa, karet gelang, tisu, botol semprot, plastik *wrap*, plastik tahan panas, korek api, spidol, indikator universal, spatula logam, batang pengaduk, jarum ose, lampu spiritus, botol kaca, mikropipet, *microtiter 96 wells*, blender, neraca analitik, oven, *laminar air flow*, hospitex diagnostics, neraca analitik Wigen Houser, mikroskop *Axioo Zeiss Imager A1*, inkubator Memmert-Germany/INC-02, *rotary evaporator* Buchii/R210, autoklaf Tomy SX-700, sentrifus Hitachi CF 16RX II, dan Instrumen FTIR Cary 630 (Agilent, Santa Clara, CA, United States).

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah limbah kulit udang, akuades, air laut buatan (*artificial sea water*), agar swallow, NaOH teknis, HCl teknis, plat silika gel F254, pelarut n-heksana, pereaksi Serium Sulfat ($Ce(SO_4)_2$) dan Dragendorff, etilasetat (EtOAc), *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *dextrose*, *ketokonazole*, metanol (MeOH) 12,5%,.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Persiapan Sampel Kulit Udang dan Koloid Kitin

Limbah kulit udang segar yang digunakan diperoleh dari Pasar Gudang Lelang, Teluk Betung, Bandar Lampung. Limbah kulit dan kepala udang yang telah dikumpulkan untuk bahan baku, selanjutnya dibersihkan dan dikeringkan sehingga diperoleh kulit udang kering yang akan digunakan sebagai bahan baku substrat.

Kitin dibuat dengan merujuk pada Hendri dkk (2007). Proses isolasi kitin melalui 2 tahap yaitu demineralisasi dan deproteinasi. Tahapan yang pertama yaitu demineralisasi yang dilakukan dengan menyiapkan 100 gram kulit udang yang telah dikeringkan dan dihaluskan. Pada tahapan ini, kulit udang yang telah disiapkan ditambahkan HCl 1,25 N dengan perbandingan 1:10 (b/v), lalu dipanaskan serta diaduk selama 1 jam pada suhu 90°C. Setelah 1 jam, suspensi dicuci dengan akuades hingga pH netral lalu dikeringkan di dalam oven dan selanjutnya ditimbang. Tahapan yang kedua yaitu deproteinasi. Pada tahapan ini, hasil residu dari proses demineralisasi ditambahkan NaOH 3,5% dengan perbandingan yang sama yaitu 1:10 (b/v) yang kemudian dipanaskan pada suhu 65°C sambil diaduk selama 2 jam menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, dilakukan penyaringan dan endapan yang diperoleh dicuci menggunakan akuades sampai pH netral. Selanjutnya, endapan dikeringkan di dalam oven untuk menghilangkan kadar air dan kemudian ditimbang. Setelah itu, endapan yang diperoleh kemudian ditambahkan HCl pekat dengan perbandingan 1:10 (b/v) lalu di stirrer selama 2 jam. Selanjutnya, dilakukan pencucian menggunakan akuades hingga pH netral dan kemudian disaring menggunakan sentrifus selama 5 menit dengan kecepatan 7000 rpm. Residu yang terbentuk kemudian di ambil lalu dicuci kembali dengan akuades sampai pH netral. Setelah itu, residu yang sudah terbentuk dipindahkan ke dalam wadah dan disimpan di kulkas.

3.3.2 Penapisan dan peremajaan Isolat *Actinomyces* 19C38A1

Dilakukan peremajaan isolat *Actinomyces* 19C38A1 yang didapat dari koleksi UPT LTSIT yang berasal dari perairan Gorontalo dengan menggunakan media selektif koloid kitin. Proses ini diawali dengan penggoresan isolat *Actinomyces* 19C38A1 di atas media media selektif koloid kitin, kemudian isolat diinkubasi pada temperatur ruang selama 14 hari.

3.3.3 Identifikasi Isolat *Actinomyces*

Isolat *Actinomyces* yang telah digores pada koloid kitin kemudian ditancapkan *cover slip* dengan sudut kemiringan 45° dan selanjutnya diinkubasi selama 7 hari. Setelah tumbuh, isolat kemudian diidentifikasi ornamen spora dengan menggunakan mikroskop *zeiss axio imager A1* pada perbesaran 400 M (Goodfellow *et al.*,2012).

3.3.4 Skrining Aktivitas Kitinolitik (Zona Bening)

Proses ini dilakukan pada media agar koloid kitin 1% dengan cara isolat *Actinomyces* ditotolkan pada bagian tengah media agar, kemudian diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang (Zou *et al.*, 2002).

3.3.5 Pembuatan Inokulum *Actinomyces* 19C38A1

Pembuatan inokulum pada fermentasi kulit udang dan koloid kitin dilakukan dengan menggunakan media cair koloid kitin 1% dengan cara menambahkan isolat *Actinomyces* 19C38A1 menggunakan jarum ose dan kemudian dikocok.

3.3.6 Kultivasi *Actinomyces* 19C38A1 Secara *Solid State Fermentation* (SSF) Pada Media Kulit Udang

Kultivasi dilakukan dengan cara *Solid State Fermentation* (SSF) pada media kulit udang dengan beberapa variasi waktu untuk mendapatkan waktu optimum. Setelah itu, dilakukan kultivasi kembali untuk mendapatkan pH optimum saat waktu optimum sudah diketahui.

3.3.6.1. Variasi Waktu

Pembuatan suspensi *Actinomyces* dilakukan terlebih dahulu dengan cara membuat larutan inokulum pada media koloid kitin tanpa agar yang ditambahkan dengan isolat *Actinomyces* 19C38A1, lalu diinkubasi secara statis pada temperatur ruang selama 7 hari. Kemudian disiapkan botol kaca dan masing-masing botol kaca tersebut diisi 5 gram kulit udang yang telah dikeringkan pada temperatur ruang sebagai media produksi. Selanjutnya media diinokulasi dengan menambahkan 5 mL suspensi *Actinomyces* dan diinkubasi secara statis pada temperatur ruang dengan variasi waktu pertumbuhan yaitu 2 hari, 4 hari, 6 hari, 8 hari, 10 hari, 12 hari, dan 14 hari untuk mengetahui waktu optimum.

3.3.6.2 Variasi pH

Setelah didapatkan waktu optimum, dilakukan kembali kultivasi *Actinomyces* 19C38A1 menggunakan 5 gram kulit udang dengan variasi pH 6,7, dan 8 yang kemudian ditambahkan dengan larutan inokulum sebanyak 5 mL. Selanjutnya diinkubasi selama waktu optimum yang telah didapatkan.

3.3.7 Kultivasi *Actinomyces* 19C38A1 Secara *Liquid State Fermentation* (LSF) Pada Media Koloid Kitin

Kultivasi dilakukan mengacu pada Setiawan *et al.*, (2022) yaitu dengan cara *Liquid State Fermentation* pada media koloid kitin dengan beberapa variasi waktu untuk mendapatkan waktu optimum. Setelah itu, dilakukan kultivasi kembali saat waktu optimum sudah diketahui.

3.3.7.1 Variasi Waktu

Pembuatan suspensi *Actinomyces* dilakukan terlebih dahulu dengan cara membuat larutan inokulum pada media koloid kitin tanpa agar yang ditambahkan dengan isolat *Actinomyces* 19C38A1, lalu diinkubasi secara statis pada temperatur ruang selama 7 hari. Selanjutnya, disiapkan media koloid kitin 1% dan media tersebut kemudian dimasukkan ke botol kaca. Setelah itu, diinokulasi dengan menambahkan suspensi *Actinomyces* dengan perbandingan 1:10 dan diinkubasi secara statis pada temperatur ruang dengan variasi waktu pertumbuhan yaitu 2 hari, 4 hari, 6 hari, 8 hari, 10 hari, 12 hari, dan 14 hari untuk mengetahui waktu optimum.

3.3.7.2 Variasi pH

Setelah didapatkan waktu optimum, dilakukan kembali kultivasi *Actinomyces* 19C38A1 dengan variasi pH 6, 7, dan 8 secara *Liquid Fermentation* dengan perbandingan 1:10. Selanjutnya diinkubasi selama waktu optimum yang telah didapatkan.

3.3.8 Uji Skrining Aktivitas Antifungi

Skrining awal bioaktivitas dilakukan menggunakan *microtiter plate 96 wells* yang merujuk pada Setiawan *et al.*, (2022). Jamur uji yang digunakan adalah *Fusarium oxysporum*. Uji antifungi mula-mula dilakukan dengan cara menyiapkan isolat fungi yang telah dikultur pada media PDA selama 7 hari. Kemudian pada jamur *Fusarium oxysporum* diambil spora *Fusarium sp* dengan cara membasahkan *cotton swab* steril dengan larutan akuades steril berisi 0,005% Tween 20 diatas permukaan *Fusarium oxysporum* dan dipindahkan ke wadah inokulum. Setelah itu ditunggu hingga partikel kasar mengendap sekitar 3-5 menit dan suspensi bagian atas dipindahkan ke wadah inokulum lain, lalu dihomogenkan. Kemudian diatur kekeruhannya sesuai dengan larutan standard 0,5Mc Farland ($1-5 \times 10^6$ CFU/mL) ekuivales 0,08-0,1 (Al-Hatmi *et al.*, 2017) dan diencerkan hingga ($1-5 \times 10^5$ CFU/mL). Pada proses penambahan ke dalam well dilakukan dengan cara yaitu menambahkan 80 μ L media PDB ke dalam well, kemudian menambahkan sampel sebanyak 20 μ L , dan terakhir yaitu penambahan isolat jamur yang sebelumnya telah disiapkan sebanyak 100 μ L. Tahap terakhir ialah dilakukan proses inkubasi plate selama 48 jam pada suhu ruang. Setelah 48 jam diinkubasi, pertumbuhan jamur diukur nilai OD 600nm dengan menggunakan hospitex kemudian hasilnya ditafsirkan sesuai dengan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 2012). Hasil yang didapat dari skrining antifungi menggunakan 96 well plate yaitu berupa ekstrak isolat unggul sebagai penghasil senyawa fungsida.

3.3.9 Analisis KLT

Uji KLT dilakukan mengacu pada Setiawan *et al.*, (2022). Uji KLT ini bertujuan untuk mengetahui komponen ekstrak dari hasil kultivasi pada media kulit udang, dan media koloid kitin yang telah dimaserasi menggunakan etil asetat (EtOAc). Pada uji KLT ini, ekstrak dipindahkan menggunakan pipa kapiler dan ditotolkan

pada fase diam berupa plat silika gel F254 dan dengan variasi pelarut n-heksana dan EtOAc sebagai fase gerak. Selanjutnya divisualisasi dengan pereaksi spesifik Dragendorf untuk mengetahui adanya komponen alkaloid, pereaksi Ninhidrin untuk mengidentifikasi adanya senyawa peptida dan Serium Sulfat ($\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$) untuk mengetahui komponen pada ekstrak secara umum.

3.3.10 Analisis *Fourier Transformed Infrared* (FTIR)

Analisis FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsional yang terdapat dalam suatu senyawa yang dianalisis (Silverstein dan Bassler, 1998).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Isolat 19C38A1 teridentifikasi dalam spesies *Streptomyces*.
2. Hasil pada analisis KLT menunjukkan bahwa isolat *Actinomyces* 19C38A1 diprediksi menghasilkan asam amino dengan pereaksi ninhidrin dan terdapat adanya komponen alkaloid dengan reagen Dragendorff.
3. Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa isolat *Actinomyces* 19C38A1 diprediksi mampu menghasilkan senyawa alkaloid pada media koloid kitin pada puncak serapan 3444.1 cm^{-1} .
4. Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa isolat *Actinomyces* 19C38A1 diprediksi mampu menghasilkan senyawa alkaloid pada media kulit udang pada puncak serapan 3205.5 cm^{-1} .
5. Metabolit sekunder yang dihasilkan dari isolat *Actinomyces* 19C38A1 berpotensi sebagai antifungi terhadap *Fusarium oxysporum* dengan nilai hambatan sebesar 47% di media kulit udang pada waktu optimum 6 hari dan 50% di media koloid kitin pada waktu optimum 10 hari dengan masing-masing pH optimum yaitu pH 6 dalam 24 jam masa inkubasi.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, diperlukan analisis lebih lanjut dengan teknik pelengkap seperti spektrometri massa atau NMR untuk memastikan identifikasi senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel-Aziz, M. S., Ghareeb, M. A., Hamed, A. A., Rashad, E. M., El-Sawy, E. R., Saad, I. M., & Ghoneem, K. M. 2021. Ethyl acetate extract of *Streptomyces* spp. isolated from Egyptian soil for management of *Fusarium oxysporum*: The causing agent of wilt disease of tomato. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 37, 102185.
- Aktar, W., Sengupta, D. and Chowdhury, A. 2009. Impact of Pesticides Use in Agriculture: Their Benefits and Hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2, 1-12.
- Ali, A., Muhammad Junda, Herlina Rante, dan Riska Nuramelia. 2018. Characterization of *Actinomycetes* Antagonist *Fusarium oxysporum* sp. *passiflora* Isolated from Rhizosphere Soil of Purple Passion Fruit Plants, South Sulawesi, Indonesia. *Journal of Physics*.
- Al-Ansari, M., Alkubaisi, N., Vijayaragavan, P., & Murugan, K. 2019. Antimicrobial potential of *Streptomyces* sp. to the Gram positive and Gram negative pathogens. *Journal of Infection and Public Health*, 12(6), 861-866.
- Al-Hatmi, A., Curfs-Breuker, I., de Hoog, GS, Meis, JF, & Verweij, PE. 2017. Antifungal Susceptibility Testing of *Fusarium*: A Practical Approach. *Journal of fungi (Basel, Switzerland)*, 3(2), 19.
- Ambarwati, Sembiring L, & Soegihardjo, C. J. 2012. Antibiotic produced by *Streptomyces* Associated With Rhizosphere of Purple Nut Sedge (*Cyperus rotundus* L.) in Surakarta, Indonesia. *African Journal of Microbiology Research*, 6 (1), 52-56.
- Aniek, M.H. 2000. Pengaruh kadar kitin dalam pakan terhadap laju pertumbuhan dan konsumsi pakan ikan gurame (*Osphronemus gouramy*). *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia*.
- Arifiyanto, A., Surtiningsih, T., Ni'matuzahroh, Fatimah, Agustina, D., & Alami, N. 2020. Antimicrobial Activity of Biosurfactants Produced by *Actinomycetes* Isolated From Rhizosphere of Sidoarjo Mud Region. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24.

- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Meier-Kolthoff, J.P., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., and van Wezel, G.P. 2016. *Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria*. *Microbiol Mol Biol*. 80: 1-43
- Benhadj, M., Gacemi-Kirane, D., Menasria, T., Guebla, K., & Ahmane, Z. 2018. Screening of rare *Actinomycetes* isolated from natural wetland ecosystem (Fetzara Lake, northeastern Algeria) for hydrolytic enzymes and antimicrobial activities. *Journal of King Saud University – Science*.
- Berna, M. G., Campa-Córdova, ángel I., Saucedo, P. E., González, M. C., Marrero, R. M., & Mazón-Suástegui, J. M. 2015. Isolation and In Vitro Selection of *Actinomycetes* Strains as Potential Probiotics for Aquaculture. *Veterinary World*. 8(2), 170–176.
- Burgess LW. 1981. *General Ecology of The Fusaria*. In: Nelson PE, Toussoun TA, Cook RJ, eds. *Fusarium: diseases, biology and taxonomy*. University Park, PA. USA: The Pennsylvania State University Press, 225–235.
- Channel, E., Moo-Young, M. 1980. *Proses Biokimia*. 4(2).
- Cheba, B. A., Zaghoul, T. I., El-Mahdy, A. R., & El-Massry, M. H. 201). Effect of nitrogen sources and fermentation conditions on *Bacillus* sp. R2 chitinase production. *Procedia Manufacturing*, 22, 280-287.
- Cheng, C., Liu, F., Wang, B., Qu, P., Liu, J., Zhang, Y., ... & Deng, G. 2022. Influences of *Serendipita indica* and *Dictyophorae echinovolvata* on the growth and *Fusarium* wilt disease resistance of banana. *Biology*, 11(3), 393.
- Fatmawati, U., Meryandini, A., Nawangsih, A. A., & Wahyudi, A. T. 2019. Screening and characterization of *Actinomycetes* isolated from soybean rhizosphere for promoting plant growth. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(10).
- Garrett SD. 1970. *Pathogenic Root-Infection Fungi*. Cambridge University Press. London, UK.
- Goodfellow, M.; Kämpfer, P.; Busse, H.-J.; Trujillo, M.E.; Suzuki, K.; Ludwig, W.; Whitman, W.B. (Eds.). 2012. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed.; Springer: New York, NY, USA.
- Goodman & Gilman. 2008. *Manual of Pharmacology and Therapeutics*. The Mc. Grau– Hill Companies. USA.
- Gordon TR, Martyn RD. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. *Annual Review of Phytopathology*. 35: 111–128.

- Griffiths, P. dan Chalmers, J. M. 1999. *Handbook of Vibration Spectroscopy*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Hendri, J., Desi Indriani, Aspita Laila., dan Irwan Ginting Suka. 2007. Pembuatan Asetilglukosamin Secara Enzimatis Dari Kulit Udang dan Kepiting. *Jurnal Ilmiah MIPA (JIM)* Vol. 10, No. 2.
- Holmes, N. A. 2012. *The Streptomyces Cytoskeletal Protein (Scy) is a Key Component of The Tip Organising Centre For Polarized Growth in Streptomyces coelicolor*. Doctoral dissertation. University of East Anglia.
- Ichaidar. 2013. *Isolasi Kitin dari Limbah Udang Putih Secara Enzimatis*. Seminar Nasional Kimia.
- J.B Harborne. 2006. *Metode Fitokimia. 2nd ed.* ITB. Bandung.
- Kavanagh, K. 2005. *Fungi Biology and Applications*. John Wiley & Sons. Inggris.
- Khanna, Monisha., RenuSolanki and Rup Lal. 2011. Selective Isolation of Rare *Actinomycetes* Producing Novel Antimicrobial Compounds. *Inter. J. Adv. Biotechnol. Res.*2(3):357-375.
- Lakshmi, B., Buddolla, V., & Gopal, D. V. R. S. 2013. Probiotics as Antiviral Agents in Shrimp Aquaculture. *Journal of Pathogens*.
- Marganov. 2003. Potensi Limbah Udang Sebagai Penyerap Logam Berat (Timbal, Kadmium, dan Tembaga) di Perairan. Laporan. IPB Bogor.
- Mazón-Suástegui, J. M., Salas-Leiva, J. S., Medina-Marrero, R., Medina-García, R., & García-Bernal, M. (2020). Effect of *Streptomyces* Probiotics on The Gut Microbiota of *Litopenaeus vannamei* Challenged With *Vibrio parahaemolyticus*. *Microbiology Open*. 9(2), 1–11.
- McGrath, M.T. 2004. Increased Resistance to Triadimefon and Benomyl in *Sphaerotheca fuliginea* Population Following Fungicide Usage over One Season. *Plant Diseases*. 80: 633-639.
- Merck, E dan Frankfrut. 1984. *Information er thin Layer Chromatography*. Academic Press. Jerman.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2012. *Clinical and Laboratory Standards Institute "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing"; twenty-second informational supplement—11th edn.* M100-S22. Standards. Vol 32.
- Nurhayati. 2011. *Penggunaan Jamur dan Bakteri Dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati yang Ramah Lingkungan*. Prosiding Semirata

- Bidang Ilmu-ilmu Pertanian BKS-PTN Wilayah Barat (pp. 316-321). Sumatera Selatan.
- Nurkanto, A., Heddy J., Andria A., dan Wellyzer S. 2012. Menyaring Aktivitas Antimikroba *Actinomycetes* yang di Isolasi dari Raja Ampat, Papua Barat, Indonesia. *Makara Journal of Science*. 16(1) : 21-26.
- Nurkanto dkk. 2007. *Identifikasi Aktinomisetes Tanah Hutan Pasca Kebakaran Bukit Bangkirai Kalimantan Timur dan Potensinya Sebagai Pendegradasi Selulosa dan Pelarut Fosfat*. Vol 8, No.4:314-319.
- Olivain C, Alabouvette C. 1997. Colonization of Tomato Root by a Nonpathogenic Strain of *Fusarium oxysporum*. *New Phytologist* 137: 481-494.
- Ons, L., Bylemans, D., Thevissen, K., & Cammue, B. 2020. Combining biocontrol agents with chemical fungicides for integrated plant fungal disease control. *Microorganisms*, 8(12), 1930.
- P. Nigam, A. Pandey (Eds.). 2009. *Bioteknologi untuk Pemanfaatan Residu Agro-Industri*. Springer Science. Belanda. ISBN 978-1-4020-9941-0, hlm. 466.
- Patil, Hemant Jand Bhushan L. Chaudhari. 2010. *Agricultural Implications of Actinomycetes*. Departement of Microbiology, School of Life Sciences, North Maharashtra University. India.
- Rahman MA, Islam MZ, Islam MA. 2011. Antibacterial Activities of *Actinomycetes* Isolates Collected From Soils of Rajshahi, Bangladesh. *Biotechnol Res Int*. 2011:857925.
- Rajmohan, K. S., Chandrasekaran, R., & Varjani, S. 2020. A review on occurrence of pesticides in environment and current technologies for their remediation and management. *Indian Journal of Microbiology*, 60(2), 125-138.
- Rubiyanto, Dwiarso. 2017. *Metode Kromatografi : Prinsip Dasar, Praktikum dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Deepublish. Yogyakarta.
- Saima, M.K., and Roohi, I. Z. A. 2013. Isolation of Novel Chitinolytic Bacteria and Production Optimization of Extracellular Chitinase. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. 11: 39-46.
- Saini, A., Aggarwal, N. K., Sharma, A., & Yadav, A. 2015. *Actinomycetes: A Source of Lignocellulolytic Enzymes*. *Enzyme Research*, 2015.
- Sastrahidayat, I. R. 1990. *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Usaha Nasional, Surabaya.

- Schechter, I., Barzilai, I.L., and Bulatov, V. 1997. *Online Remote Prediction of Gasoline Properties by Combined Optical Method*. *Anal. Chim. Acta*.
- Semangun, H. 2007. *Penyakit-Penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setiawan A, Widyastuti W, Irawan A, Wijaya OS, Laila A, Setiawan WA, Juliasih NLGR, Nonaka K, Arai M, Hendri J. 2021. Solid State Fermentation of Shrimp Shell Waste Using *Pseudonocardia carboxydvorans* 18A13O1 to Produce Bioactive Metabolites. *Fermentation*, 7(4):247.
- 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.
- Siemieniuk, M., Grabowska, E., Czyżewska, U., Bartoszewicz, M., & Tylicki, A. 2019. Polyenes In Therapy Of Mycosis—Characteristics And Mechanisms Of Resistance. *Modern Problems And Solutions In Environmental Protection*, 146.
- Silverstein, R. M., dan Bassler. 1998. *Spectrometric Identification Of Organic Compounds Sixth Edition*. John Wiley and Sons, Inc. New York.
- Singh, L. S., Sharma, H., & Sahoo, D. 2019. *Actinomyces* from soil of Lachung, a pristine high altitude region of Sikkim Himalaya, their antimicrobial potentiality and production of industrially important enzymes. *Advances in Microbiology*, 9(08), 750.
- Srivastava, N., Srivastava, M., Ramteke, P. W., and Mishra, P. K. 2019. Solidstate fermentation strategy for microbial metabolites production: An overview. *New and future developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*, 345-354.
- Stephen, A.M. 1995. *Food Polysaccharides and their Applications*. Rondebosch: Department of Chemistry, University of Cape Town.
- Sudarmo, S. 2005. *Pestisida Nabati : Pembuatan dan Pemanfaatannya*. Kanisius. Yogyakarta. hlm : 4-5.
- Sudarmo, S. 1991. *Pestisida*. Kanisius. Yogyakarta.
- Suhardi, 1993. *Kitin dan Kitosan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Taufan, M. R S. & Zulfahmi, 2010. *Pemanfaatan Limbah Kulit Udang Sebagai Bahan Anti Rayap (Bio-termitisida) Pada Bangunan Berbahan Kayu*, Skripsi. Universitas Diponegoro, Semarang, 44 hal.

- Thermo Nicolet. 2001. *Introduction to FTIR Spectrometry*. Thermo Nicolet Inc: Madison. USA.
- Wei, T., Zhang, CS., Chen, QH., Zhou, YP., dan Tian, CE. 2022. *Fermentasi cair Ganoderma dan penerapan produknya*. Mikrobiologi. China.
- Zhao, P., Guan, M., Tang, W., Walayat, N., Ding, Y., dan Liu, J. 2023. Keragaman struktural, produksi fermentasi, bioaktivitas dan aplikasi triterpenoid dari beberapa jamur obat umum: Kemajuan terkini dan prospek masa depan. *Fitoterapi*:166, 105470. PubMed.
- Zou, X. H., Nonogaki, H., Welbaum, G. E., 2002 A gel diffusion assay for visualization and quantification of chitinase activity. *Journal of Molecular Biotechnology*, **22**(1):19-27.