

**PEMANFAATAN KULIT UDANG SEBAGAI MEDIA TUMBUH  
*ACTINOMYCETES* UNTUK MENGHASILKAN SENYAWA BIOAKTIF  
ANTIBAKTERI TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DAN  
*Staphylococcus aureus***

**(Skripsi)**

**Oleh**

**IKA WAHYU LESTARI  
NPM 1817011025**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMPUNG  
BANDAR LAMPUNG  
2025**

## ABSTRACT

Utilization of Shrimp Shells as a Growth Medium for *Actinomycetes* to Produce Antibacterial Bioactive Compounds against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*

By

Ika Wahyu Lestari

Chitin contained in shrimp shells is utilized by *Actinomycetes* as a source of carbon and nitrogen to support its growth and development. This study aims to utilize shrimp shell waste as a growth medium for *Actinomycetes* to produce antibacterial compounds against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Actinomycetes* isolates were rejuvenated on 1% colloidal chitin agar medium. The isolates were then inoculated into a 1% colloidal chitin liquid medium for seven days. Subsequently, the inoculum was cultivated on a solid shrimp shell medium for 14 days. The crude extract obtained from *Actinomycetes* was tested for antibacterial bioactivity against *P. aeruginosa* and *S. aureus* using the dilution method. The 19C38A1 isolate, which showed antibacterial potential, was further cultivated on a larger scale. The crude extract from cultivation was purified using column chromatography and characterized using LC-MS/MS. In this study, the 19C38A1 isolate demonstrated antibacterial potential against *P. aeruginosa* and *S. aureus* at a concentration of 2 mg/mL. Characterization results revealed that the chemical properties of the 19C38A1 isolate contained alkaloid compounds (pyridine and quinazoline). These findings indicate that *Actinomycetes* grown in shrimp shell medium can produce compounds with antibacterial potential against *P. aeruginosa* and *S. aureus*.

## ABSTRAK

Pemanfaatan Kulit Udang sebagai Media Tumbuh *Actinomycetes* untuk Menghasilkan Senyawa Bioaktif Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*

Oleh

Ika Wahyu Lestari

Kitin yang terkandung dalam kulit udang digunakan oleh *Actinomycetes* sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangannya. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan limbah kulit udang sebagai media tumbuh *Actinomycetes* untuk menghasilkan senyawa antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*. Isolat *Actinomycetes* diremajakan pada media agar koloid kitin 1%. Kemudian isolat *Actinomycetes* diinokulasi pada media cair koloid kitin 1% selama 7 hari. Selanjutnya, inokulum dikultivasi pada media padat kulit udang selama 14 hari. Ekstrak kasar *Actinomycetes* yang diperoleh diuji bioaktivitas antibakteri terhadap *P.aeruginosa* dan *S.aureus* dengan menggunakan metode dilusi. Isolat 19C38A1 yang memiliki potensi sebagai antibakteri selanjutnya dikultivasi dalam skala besar. Ekstrak kasar hasil kultivasi dimurnikan dengan kromatografi kolom dan dikarakterisasi dengan menggunakan LC-MS/MS. Dalam penelitian ini, isolat 19C38A1 memiliki potensi sebagai antibakteri terhadap *P.aeruginosa* dan *S.aureus* pada konsentrasi 2 mg/mL. Hasil karakterisasi menunjukkan sifat kimia senyawa isolat 19C38A1 mengandung adanya senyawa alkaloid (piridin dan kuinazolin). Hasil ini menunjukkan bahwa *Actinomycetes* yang ditumbuhkan dalam media kulit udang dalam menghasilkan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap *P.aeruginosa* dan *S.aureus*.

**PEMANFAATAN KULIT UDANG SEBAGAI MEDIA TUMBUH  
ACTINOMYCETES UNTUK MENGHASILKAN SENYAWA BIOAKTIF  
ANTIBAKTERI TERHADAP *Pseudomonas aeruginosa* DAN  
*Staphylococcus aureus***

Oleh

**IKA WAHYU LESTARI**

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  
2025**

Judul Penelitian

: PEMANFAATAN KULIT UDANG SEBAGAI  
MEDIA TUMBUH *ACTINOMYCETES* UNTUK  
MENGHASILKAN SENYAWA BIOAKTIF  
ANTIBAKTERI TERHADAP *Pseudomonas*  
*aeruginosa* DAN *Staphylococcus aureus*

Nama Mahasiswa

: Ika Wahyu Testari

Nomor Pokok Mahasiswa

: 1817011025

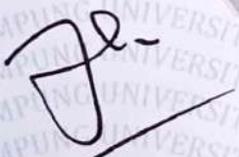
Jurusan

: Kimia

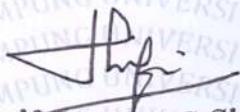
Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP 195809221988111001

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

NIP 197308252000031001

2. Ketua Jurusan Kimia

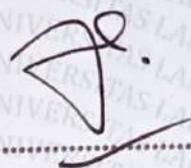
  
Dr. Mita Rilyanti, M.Si.

NIP 197205302000032001

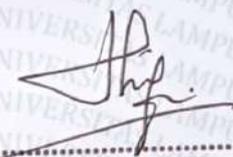
**MENGENSAKAN**

1. Tim Penguji

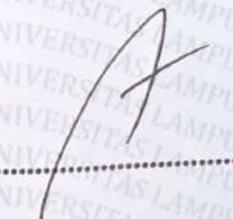
Ketua : Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.



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



Anggota : Dra. Aspita Laila, M.S.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 7 Februari 2025

**SURAT PERNYATAAN  
KEASLIAN SKRIPSI**

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Ika Wahyu Lestari

Nomor Pokok Mahasiswa : 1817011025

Jurusan : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul **“Pemanfaatan Kulit Udang sebagai Media Tumbuh *Actinomyces* untuk Menghasilkan Senyawa Bioaktif Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*”** 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 publikasi.

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

Bandar Lampung, 20 Maret 2025

Yang menyatakan,



Ika Wahyu Lestari  
NPM. 1817011025

## RIWAYAT HIDUP



Penulis skripsi ini bernama Ika Wahyu Lestari Lahir pada tanggal 24 Juni 2000 di Daya Murni, Kecamatan Tumijajar, Kabupaten Tulang Bawang Barat, Lampung. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara dari pasangan Bapak Misran dan Ibu Sri Wahyuni. Jenjang pendidikan yang pernah ditempuh penulis dimulai dari Pendidikan Taman Kanak-kanak (TK) Dharma Wanita Daya Murni pada tahun 2005-2006, tingkat Sekolah Dasar (SD) di SD Negeri 1 Daya Murni, Tumijajar pada tahun 2006-2012, tingkat Sekolah Menengah Pertama (SMP) di SMP Negeri 1 Tumijajar pada tahun 2012-2015, dan tingkat Sekolah Menengah Atas (SMA) di SMA Negeri 1 Tumijajar pada tahun 2015-2018.

Tahun 2018, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum Kimia Organik dan aktif di organisasi Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) FMIPA Unila. Pada tahun 2021 penulis mengikuti kegiatan Program Mahasiswa Wirausaha (PMW) kelompok dan terpilih sebagai peserta yang lolos pembiayaan di tingkat Universitas Lampung. Penulis mengikuti kegiatan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Daya Asri, Kecamatan Tumijajar, Kabupaten Tulang Bawang Barat, Provinsi Lampung selama 40 hari.

Hidup memang tidak sempurna. Tapi kita bisa membuatnya lengkap dengan  
selalu berterima kasih  
–Tere Liye–

Ketulusan seseorang sesuai dengan kadar kemanusiaannya  
–Ali bin Abi Thalib–

Sesungguhnya pertolongan akan datang bersama dengan kesabaran  
–HR. Bukhari–

Cukuplah Allah menjadi penolong kami dan Allah adalah sebaik-baik pelindung  
–Q.S. Ali Imran: 173–

Berhenti menyalahkan masa lalu, cobalah untuk menerimanya dan memahami  
bahwa itu hanya membuatmu lebih kuat dan dewasa  
–Nazril Irham–

Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan, sesungguhnya  
sesudah kesulitan itu ada kemudahan  
–Q.S. al-Insyirah :5-6–

Jangan menyesali masa lalu, karena masa depan masih terbuka lebar  
–Utsman bin Affan–

## **PERSEMBAHAN**

Dengan mengucapkan Alhamdulillah rabbil 'alamiin. Puji syukur kepada Allah SWT berkat ridho-Nya skripsi ini dapat terselesaikan.

Karya tulis ini dipersembahkan kepada:

### **Kedua Orang Tuaku Tercinta Bapak Misran dan Ibu Sri Wahyuni**

Yang selalu memberikan kasih sayang serta dukungannya, yang tak pernah lelah bermandi peluh dan yang tak pernah lelah untuk selalu mendoakanku. Terimakasih sudah melahirkan dan membesarkanku semoga selalu diberikan kesehatan serta umur yang panjang dan selalu dalam lindungan Allah SWT.

### **Adikku tersayang Aditya Bagus Irawan**

Yang selalu memberikan dukungan dan semangat serta selalu mendoakanku.

### **Keluarga besar**

Yang senantiasa selalu mendoakan, memberikan dukungan, serta kasih sayang yang tak pernah ada habisnya.

### **Almamaterku yang kubanggakan**

Terimakasih atas dukungan serta doa yang selalu menyertai. Dengan terselesaikannya skripsi ini membuktikan bahwa putri kecilmu ini berhasil menyelesaikan tanggung jawabnya dalam mengenyam pendidikan dan gelar sarjananya. Terimakasih kepada semua semoga selalu dalam lindungan Allah SWT.

## SANWACANA

Bismillahirrahmanirrahim,

Puji syukur kehadiran Allah SWT. yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pemanfaatan Kulit Udang sebagai Media Tumbuh *Actinomyces* untuk Menghasilkan Senyawa Bioaktif Antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*”, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Strata Satu (S-1) Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Lampung. Sholawat serta salam tidak lupa selalu tecurahkan kepada Baginda Rasulullah Muhammad SAW. beserta keluarga dan sahabatnya. Semoga kita semua senantiasa mendapatkan syafaat dan petunjuknya hingga hari akhir nanti. Selanjutnya, adanya bimbingan, motivasi, dan bantuan dari berbagai pihak yang telah diperoleh penulis sehingga membantu mempermudah proses penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati, penulis ingin menyampaikan rasa hormat dan terima kasih yang tulus kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A., IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung beserta staf dan jajarannya;
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung beserta staf dan jajarannya;
3. Ibu Dr. Mita Rilyanti, M.Si., selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung;

4. Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Utama atas kesediaannya memberikan ilmu, saran, kritik serta bimbingan dalam proses menyelesaikan penelitian ini;
5. Bapak Syaiful Bahri, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Kedua dan Pembimbing Akademik atas kesediaannya memberikan ilmu, saran, kritik serta bimbingan dalam proses menyelesaikan penelitian ini;
6. Ibu Dra. Aspita Laila, M.S., selaku Dosen Pembahas atas kesediaannya dalam membimbing serta memberikan saran dan kritik dalam proses menyelesaikan penelitian ini;
7. Bapak dan Ibu Dosen Jurusan Kimia yang telah memberikan ilmu, nasehat, serta bimbingan selama perkuliahan;
8. Bapak dan Ibu Laboran serta Staf UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung;
9. Bapak dan Ibu Laboran serta Staf Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung;
10. Kedua orang tua saya, adik, serta keluarga besar saya yang selalu memberikan semangat dan dukungan moril serta materiil selama menyelesaikan penelitian ini;
11. Seseorang yang spesial dihati saya yang selalu memberikan doa, dukungan dan semangat dalam menyelesaikan penelitian ini;
12. Teman-teman Kimia angkatan 2018 yang saya sayangi dan selalu memberikan dukungan dan semangat;
13. Teman-teman yang melakukan penelitian di UPT LTSIT Unila, Kak Fendi Setiawan, S.Si., M.Si., Kak Rosyidatul Luthfiah, S.Si., M.Si., kakak-kakak yang juga melakukan penelitian di UPT LTSIT Unila yang senantiasa membimbing dan mengarahkan serta memberikan saran dalam menyelesaikan penelitian ini;
14. Kakak-kakak yang pernah kos di Asrama Gamalama; Mba Pirani, S.Pd., Mba Isnaini Alwiyah, S.Pd., Mba Suryaningtias, S.P., Mba Ayunda Ristiyani, S.P., Mba Dwi Wulandari, S.Pd., Gr., Mba Indah Murnia Sari, S.P. yang selalu memberikan semangat dan dukungan moral dalam menyelesaikan penelitian ini;

15. Teman-teman yang pernah kos di Asrama Gamalama; Fera Maya Sari, S.M., Inka Kumala Dewi, S.P., Risna Dhamayanti, S.P., dan adik-adik yang kos di Asrama Gamalama;
16. Teman-teman yang pernah terlibat dalam proses pembelajaran di bangku perkuliahan baik aktivitas di dalam ataupun di luar kelas;
17. Teman-teman SD-SMA yang telah memberikan dukungan, bantuan dan semangat;
18. Almamater tercinta, Universitas Lampung.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini, karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Semoga semua pihak yang telah membantu dalam pembuatan skripsi ini selalu diberikan kebahagiaan, keberkahan, serta kesehatan.

Bandar Lampung, Maret 2025  
Penulis

Ika Wahyu Lestari

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xvii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xviii</b>
<b>I. PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	4
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
<b>II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>5</b>
2.1 Kulit Udang .....	5
2.2 Bakteri Patogen .....	5
2.3 Antibakteri.....	8
2.4 <i>Actinomyces</i> .....	8
2.5 Metabolit Sekunder .....	12
2.6 Fermentasi padat/ <i>Solid-State Fermentation</i> (SSF).....	14
2.7 Kromatografi .....	15
2.7.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	15
2.7.2. Kromatografi Kolom.....	16
2.8 Metode Uji Bioaktivitas .....	17
2.9 Karakterisasi .....	18

2.9.1.	Spektroskopi LC-MS/MS .....	18
<b>III.</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>20</b>
3.1	Waktu dan Tempat Penelitian .....	20
3.2	Alat dan Bahan .....	20
3.3	Prosedur Penelitian .....	21
3.3.1	Biomaterial.....	21
3.3.2	Peremajaan <i>Actinomyces</i> .....	22
3.3.3	Identifikasi <i>Actinomyces</i> .....	22
3.3.4	Kultivasi dan Ekstraksi .....	23
3.3.5	Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	23
3.3.6	Uji Bioaktivitas Antibakteri.....	24
3.3.7	Fraksinasi dan Purifikasi.....	24
3.3.8	Uji difusi agar .....	25
3.3.9	Karakterisasi .....	26
3.3.10	Diagram Alir Penelitian .....	27
<b>IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
4.1	Isolat <i>Actinomyces</i> .....	28
4.2	Identifikasi mikroskopik.....	29
4.3	Kultivasi dan Ekstraksi.....	31
4.4	Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	32
4.5	<i>Screening</i> Bioaktivitas Antibakteri.....	34
4.6	Uji Difusi Agar .....	36
4.7	Fraksinasi dan Purifikasi .....	37
4.8	Karakterisasi LC-MS/MS.....	38
<b>V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>41</b>
5.1	Kesimpulan.....	41

5.2 Saran.....	41
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>42</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>48</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kelompok utama metabolit sekunder. ....	12
2. Klasifikasi Aktivitas Antibakteri .....	25
3. Identifikasi makroskopis dan mikroskopis isolat <i>Actinomycetes</i> .....	31

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	6
2. Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
3. Spora tunggal dan spora dalam rantai pendek. Monospora: (A) <i>Micromonospora</i> , (B) <i>Thermomonospora</i> , (C) <i>Saccharomonospora</i> , dan (D) <i>Thermoactinomyces</i> . Dispora: (E) <i>Microbispora</i> . Oligospora: (F) <i>Nocardia brevicatena</i> , (G) <i>Catellatospora</i> (Li <i>et al.</i> , 2016).....	10
4. Spora dalam rantai panjang. (A) Jenis <i>Rektifleksibil</i> , (B) Jenis <i>Retinaculiaperti</i> , (C) Jenis <i>Spira</i> , (D) Jenis <i>Verticillati</i> . <i>Nocardiosis</i> : (E) memecah hifa udara dan bercabang (Li <i>et al.</i> , 2016).....	11
5. Goresan Isolat Actinomycetes A. 18A13O1, B. 19A07A1, C. 19C32A1. D. 19C38A1.....	28
6. Morfologi isolat <i>Actinomycetes</i> diamati dengan mikroskop cahaya; A. 18A13O1; B. 19A07A1; C. 19C32A1; D. 19C38A1 .....	30
7. Hasil kultivasi dan ekstrak kasar dari isolat: A. 18A13O1, B. 19A07A1, C. 19C32A1, dan D. 19C38A1. ....	32
8. Hasil uji pada plat KLT dari ekstrak kasar ke-4 isolat, A. pereaksi serum sulfat, B. pereaksi Dragendorff.....	33
9. Grafik nilai % inhibisi ekstrak kasar isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap bakteri <i>P. aeruginosa</i> .....	34
10. Grafik nilai % inhibisi ekstrak kasar isolat <i>Actinomycetes</i> terhadap bakteri <i>S. aureus</i> .....	35
11. Hasil uji difusi agar fraksi DCM dan Air Isolat 19C38A1; A. <i>S. auerus</i> ; dan B. <i>P. aeruginosa</i> .....	36
12. Kromatogram fraksi ke-16 isolat 19C38A1 fraksi DCM.....	38

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi bakteri merupakan salah satu penyakit yang menjadi perhatian WHO. *Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS)* yang diterbitkan WHO melaporkan bahwa diperkirakan terdapat 4,95 juta orang meninggal di 204 negara pada tahun 2019 secara langsung atau tidak langsung karena infeksi bakteri yang resisten terhadap antibiotik (*World Health Organization, 2022*). Data literatur lain menyatakan bahwa setiap tahun di Amerika Serikat terdapat 2,8 juta orang terinfeksi oleh bakteri yang telah resisten terhadap antibiotik dan lebih dari 35.000 orang meninggal setiap tahun sebagai akibat langsung dari resistensi ini (*Center for Disease Control and Prevention, 2019*). Pada bulan Juli 2024, CDC melaporkan bahwa infeksi bakteri yang resisten terhadap antimikroba yang muncul di rumah sakit meningkat hingga 20% selama COVID-19 dibandingkan sebelum pandemi, dan mencapai puncaknya pada tahun 2021 (*Center for Disease Control and Prevention, 2024*).

Bakteri yang resisten terhadap berbagai obat ini dikelompokkan dalam sebuah akronim “ESKAPE”, yang terdiri dari *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Enterobacter* spp (Navidinia, 2016). Kelompok bakteri ini menjadi perhatian dunia karena kelompok bakteri ini dapat menghindar atau ‘melarikan diri’ dari antibiotik yang biasa digunakan yang disebabkan oleh meningkatnya resistensi multi-obat (MDR). Patogen ESKAPE resisten terhadap antibiotik yang umumnya digunakan seperti penisilin, vankomisin, karbapenem, dan masih banyak lagi (Mulani *et al.*, 2019). *P. aeruginosa* dan *S. aureus* menjadi

patogen yang paling banyak ditemukan di biofilm yang ditemukan di pusat kesehatan (Hoiby *et al.*, 2010). Kedua bakteri ini menjadi penyebab utama penyakit *pneumonia nosocomial* (Dharmayanti & Sukrama, 2019).

Upaya yang dapat dilakukan untuk menangani permasalahan ini ialah pencarian senyawa antibakteri baru. Banyak penelitian telah dilakukan dalam pencarian senyawa bioaktif antibakteri baru, salah satunya yang berasal dari *Actinomycetes*. *Actinomycetes* diketahui sebagai mikroorganisme penghasil metabolit sekunder yang memegang peranan penting dalam industri kesehatan. Aktivitas senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* mampu menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur, oleh karena itu, *Actinomycetes* banyak dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai obat dalam upaya penanggulangan berbagai macam penyakit, baik pada manusia maupun hewan (Solanki *et al.*, 2008). *Actinomycetes* laut dari jenis *Streptomyces armeniacus* dan *Streptomyces alkalithermotolerans* telah dilaporkan memiliki daya hambat terhadap *P. aeruginosa* dengan zona hambat nya adalah 20, 17, 48 mm untuk *Streptomyces armeniacus* dan 44 mm untuk *Streptomyces alkalithermotolerans* (Malathi *et al.*, 2021). *Actinomycetes* laut lain dari jenis *Pseudonocardia carboxydivorans* dilaporkan juga memiliki daya hambat terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 250 µg/mL (Setiawan *et al.*, 2021).

Fermentasi padat/*solid-state fermentation* (SSF) adalah proses fermentasi yang melibatkan matriks padat dengan jumlah yang sangat rendah atau tanpa air, namun harus ada kelembapan yang cukup dalam substrat untuk mendukung metabolisme dan pertumbuhan mikroorganisme. Metode SSF memegang peranan penting untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Meskipun metode SSF dengan menggunakan biji-bijian seperti beras atau kacang kedelai telah banyak dilakukan, sistem SSF yang berbeda (non-tradisional) dengan potensi menghasilkan metabolit sekunder telah dikembangkan dalam 20 tahun terakhir (Barrios-Gonzales *et al.*, 2005). Dong *et al.* (2016) melaporkan telah berhasil mengisolasi senyawa baru yaitu *sambacide* yang diproduksi dengan metode SSF dengan menggunakan kentang sebagai media fermentasi yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* dan *Escherichia coli*. *Streptomyces fradiae* NCIM

2418 dilaporkan dapat menghasilkan senyawa neomisin dengan metode fermentasi padat menggunakan bungkil kelapa sebagai substrat (Vastrad and Neelagund, 2014).

Udang termasuk dalam keluarga krustasea yang paling banyak diminati dibanding jenis krustasea lain. Hasil tangkapan udang pada tahun 2017 dan 2018 mencapai 336.000 ton. Bagian yang tidak dapat dimakan dari limbah pengolahan udang termasuk bagian cangkang (kulit), kepala dan ekor mencapai 50-70% dari volume total bahan baku (Ooi *et al.*, 2021). Kulit udang mengandung protein sekitar 25-40%, kalsium karbonat 40-50%, dan kitin sekitar 20-36,61%. Besarnya kandungan komponen-komponen tersebut bergantung pada jenis udang dan habitat udang tersebut (Srijanto dan Imam, 2005). Kulit udang dapat dimanfaatkan sebagai salah satu substrat dalam metode SSF sebagaimana telah dilaporkan oleh (Setiawan *et al.*, 2021). Kitin yang terkandung dalam kulit udang digunakan oleh *Actinomyces* sebagai sumber karbon dan nitrogen untuk mendukung pertumbuhan dan perkembangannya (Schrempf, 2001). Namun, belum banyak yang menggunakan kulit udang sebagai media fermentasi dalam metode fermentasi padat.

Berdasarkan uraian di atas, pencarian senyawa bioaktif antibakteri yang baru perlu dilakukan sebagai salah satu upaya penanganan resistensi bakteri. Pengembangan dalam media fermentasi juga perlu dilakukan, seperti dengan menggunakan kulit udang yang masih belum banyak dimanfaatkan sebagai media fermentasi. Latar belakang tersebut menunjukkan pentingnya dilakukan penelitian dengan memanfaatkan limbah kulit udang sebagai media tumbuh *Actinomyces* untuk menghasilkan senyawa bioaktif antibakteri baru.

Penelitian ini difokuskan pada kultivasi, ekstraksi, dan karakterisasi senyawa bioaktif dari *Actinomyces*. Hasil isolasi senyawa bioaktif dari *Actinomyces* diuji aktivitas biologisnya dengan uji antibakteri oleh bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* dengan menggunakan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Hasil isolasi senyawa bioaktif antibakteri dikarakterisasi lebih lanjut dengan spektrometri LC-MS/MS.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Memanfaatkan media kulit udang sebagai media tumbuh *Actinomycetes*.
2. Mendapatkan *Actinomycetes* yang dapat menghasilkan senyawa antibakteri terhadap *P.aeruginosa* dan *S. aureus*.
3. Mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa bioaktif antibakteri sebagai antibakteri terhadap *P.aeruginosa* dan *S. aureus*.

## 1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait dengan potensi *Actinomycetes* sebagai penghasil senyawa antibakteri baru sebagai salah satu upaya penanganan masalah resistensi bakteri patogen yang sedang terjadi. Selain itu, penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi yang dapat digunakan dalam bidang kimia.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **2.1 Kulit Udang**

Udang termasuk ke dalam sepuluh komoditas unggulan Indonesia non migas serta subsektor perikanan Indonesia (Sarwanto dkk, 2018). Limbah udang adalah sisa hasil industri pengulitan udang yang terdiri dari kepala, kulit (cangkang), dan kaki. Produksi limbah kulit udang di Indonesia mencapai 141.040 ton/tahun, atau 4% dari produksi udang yang mencapai 352.600 ton/tahun (Direktorat Jendral Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan, 2010). Kulit udang mengandung protein sekitar 25-40%, kalsium karbonat 40-50%, dan kitin sekitar 20-36,61%. Besarnya kandungan komponen-komponen tersebut bergantung pada jenis udang dan habitat udang tersebut (Srijanto dan Imam, 2005). Kitin secara kimiawi merupakan biopolimer dari unit N-asetil-D-glukosamin berwarna putih, tidak berasa, tidak berbau, dan tidak larut dalam air, pelarut organik umumnya, asam-asam anorganik, dan basa encer. Kitin mengikat N dari asam amino penyusun protein sehingga protein menjadi sulit untuk dicerna oleh mamalia (Pratiwi dkk, 2015).

### **2.2 Bakteri Patogen**

Bakteri patogen merupakan bakteri yang dapat menginfeksi hingga menyebabkan penyakit pada inang. Sebagian besar spesies bakteri tidak berbahaya dan sering kali bermanfaat tetapi sebagian yang lain dapat menyebabkan penyakit menular. Bakteri patogen secara khusus memiliki kemampuan adaptasi dan memiliki

mekanisme untuk menembus pertahanan tubuh normal, dan dapat menyerang bagian tubuh seperti darah dimana biasanya bakteri tidak ditemukan. Salah satu bakteri yang termasuk kedalam patogen adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*.

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan salah satu bakteri gram negatif yang sering diisolasi dari pasien di ruang ICU. *P. aeruginosa* menjadi bakteri penyebab infeksi pada pasien dengan imunitas yang menurun. Bakteri ini mampu beradaptasi dengan kondisi oksigen dan nutrisi yang rendah. *P. aeruginosa* dapat hidup pada peralatan-peralatan medis dan bagian-bagian lain di rumah sakit, sehingga dapat dengan mudah menginfeksi pasien yang sedang mengalami penurunan imunitas. Pengobatan pada penyakit yang diakibatkan oleh infeksi bakteri *P. aeruginosa* menjadi lebih sulit karena adanya resistensi terhadap berbagai jenis antibiotik (Dharmayanti & Sukrama, 2019).



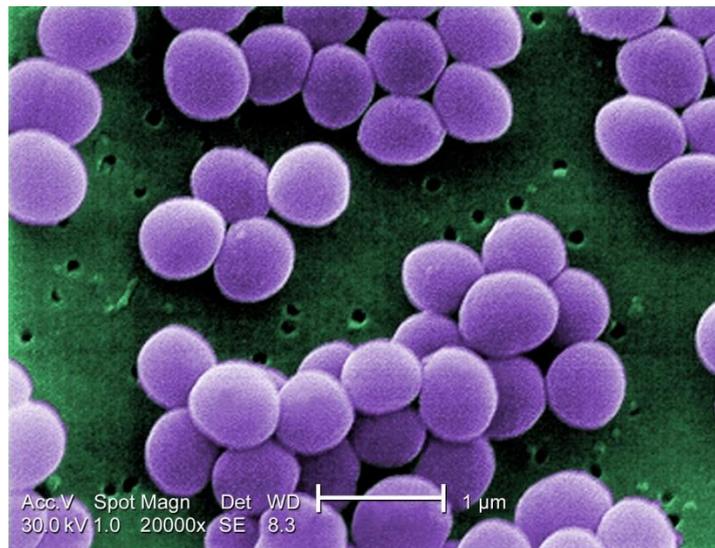
Gambar 1. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.

(<https://www.cdc.gov/Pseudomonas-aeruginosa/about/index.html>)

*P. aeruginosa* merupakan bakteri aerob yang berbentuk batang dan tidak mempunyai kapsul atau selubung (namun sebagian ada yang memiliki selubung atau kapsul). Bakteri ini memiliki flagela polar sehingga bakteri ini bersifat motil serta berukuran sekitar 0,5-1,0  $\mu\text{m}$  (Strohl *et al.*, 2001). Bakteri *P. aeruginosa*

dapat tumbuh dalam rentang suhu 37-42<sup>0</sup>C. *P. aeruginosa* tidak menghasilkan spora dan tidak dapat memfermentasikan karbohidrat. Secara luas, bakteri ini dapat ditemukan di alam, contohnya di air, tanaman, tanah, dan hewan. Bakteri ini termasuk kedalam bakteri oportunistik dan merupakan penyebab utama infeksi *pneumonia nosokomial* (Dharmayanti & Sukrama, 2019).

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang banyak ditemukan pada kulit manusia, selaput lendir pada mulut, hidung, saluran pernafasan, saluran pencernaan, selain itu juga dapat ditemukan di dalam air, tanah, makanan, susu, bahkan udara. *S. aureus* merupakan mikroflora normal pada manusia. Keberadaan *S. aureus* pada saluran pernafasan atas atau kulit pada suatu individu jarang menyebabkan penyakit, individu yang sehat biasanya hanya berperan sebagai karier (Madigan *et al.*, 2008).



Gambar 2. Bakteri *Staphylococcus aureus*.

([https://id.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_aureus](https://id.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus))

*S. aureus* merupakan bakteri yang bersifat anaerob fakultatif, menghasilkan pigmen kuning, tidak menghasilkan spora dan tidak motil. Bakteri ini umumnya

tumbuh secara berpasangan maupun berkelompok. Bakteri ini berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1,0  $\mu\text{m}$ . *S. aureus* memiliki bentuk bulat yang terlihat seperti untaian buah anggur ketika diamati dibawah mikroskop. *S. aureus* dapat tumbuh dengan optimum pada suhu 37<sup>0</sup>C dengan waktu pembelahan 0,47 jam (Prescott *et al.*, 2002).

### 2.3 Antibakteri

Antibakteri merupakan merupakan zat yang dapat mengganggu bahkan membunuh bakteri dengan cara mengganggu metabolisme dari bakteri tersebut. antibakteri termasuk kedalam antimikroba yang digunakan untuk mengambat atau bahkan menghentikan pertumbuhan bakteri yang merugikan. Mekanisme kerja senyawa antibakteri yaitu menghambat sintesis dinding sel, menghambat keutuhan permeabilitas dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Suatu antibakteri dapat digunakan hanya jika mempunyai sifat toksik selektif, artinya dapat membunuh bakteri yang menyebabkan penyakit tetapi tidak beracun bagi penderitanya (Madigan *et al.*, 2008).

### 2.4 *Actinomycetes*

*Actinomycetes* adalah organisme prokariotik yang diklasifikasikan sebagai bakteri, tetapi secara morfologis, *Actinomycetes* menyerupai jamur karena selnya yang memanjang dan bercabang membentuk filamen atau hifa. Hifa ini dapat dibedakan dari hifa jamur berdasarkan ukuran, dimana hifa *Actinomycetes* jauh lebih kecil dari hifa jamur. Namun dengan berkembangnya ilmu pengetahuan, *Actinomycetes* secara morfologi lebih dekat dengan bakteri. Penggolongan *Actinomycetes* sebagai bakteri adalah karena *Actinomycetes* memiliki nukleod yang sama dengan bakteri dilihat dari ukuran sel, spora serta miseliumnya.

Dinding sel *Actinomycetes* disusun oleh polimer-polimer gula, asam amino, dan gula amino seperti halnya dinding sel yang dimiliki oleh bakteri gram positif (Li *et al.*, 2016). Adapun klasifikasi *Actinomycetes* menurut Zhi *et al.*, (2009) adalah:

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Actinobacteria*

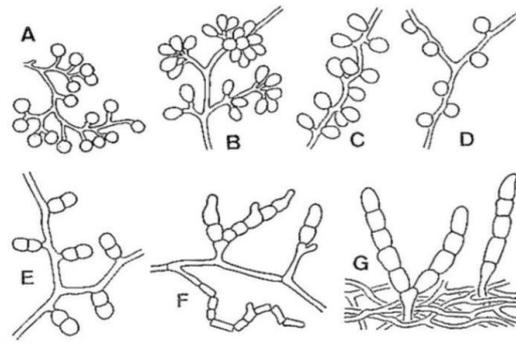
Kelas : *Schizomycetes*

Subkelas : *Actinobacteridae*

Ordo : *Actinomycetales*

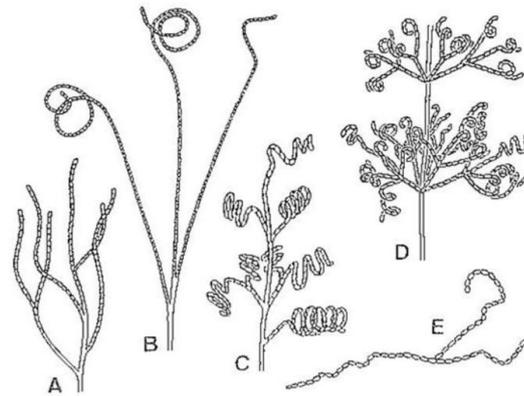
*Actinomycetes* secara umum memiliki miselium, yang berdasarkan morfologi dan fungsinya dapat dibagi menjadi miselium substrat dan miselium aerial (miselium udara). Miselium substrat tumbuh ke dalam media atau pada permukaan media kultur yang memiliki fungsi utama sebagai penyerap nutrisi untuk pertumbuhan Aktinobakteria. Sedangkan miselium aerial adalah hifa tempat miselium substrat berkembang sampai tahap tertentu dan tumbuh ke udara. Beberapa Aktinobakteria dapat membentuk struktur yang kompleks, seperti spora, rantai spora, sporangia, dan sporangiospora (Li *et al.*, 2016).

Rantai spora *Actinomycetes* secara morfologi dapat dibedakan berdasarkan panjang dan jumlah spora: di- atau bispora dengan dua spora, oligospora dengan beberapa spora, dan poli-spora dengan banyak spora. Monospora merupakan tipe dari spora produksi tunggal. Jenis spora ini terdapat pada berbagai kelompok supragenerik, seperti *Micromonospora*, *Thermomonospora*, *Saccharomonospora*, dan *Thermoactinomyces*. Rantai *disporous* mengandung sepasang spora memanjang. Jenis spora ini diwakili oleh spesies dari genus *Microbispora*. *Actinomycetes oligosporous* mayoritas memiliki 7 hingga 20 spora per-rantai dan setidaknya memiliki 3 spora (Gambar 3) (Li *et al.*, 2016).



Gambar 3. Spora tunggal dan spora dalam rantai pendek. Monospora: (A) *Micromonospora*, (B) *Thermomonospora*, (C) *Saccharomonospora*, dan (D) *Thermoactinomyces*. Dispora: (E) *Microbispora*. Oligospora: (F) *Nocardia brevicatena*, (G) *Catellatospora* (Li et al., 2016).

Genus *Streptomyces* membentuk rantai spora panjang yang sering memiliki lebih dari 50 spora. Hifa udara *Streptomyces* yang bersporulasi dapat dibedakan menjadi tipe utama berikut (Gambar 2): (A) Tipe *Rektifleksibil*, rantai spora lurus atau lentur, sebagian dalam fasikula; (B) Jenis *Retinaculiaperti*, rantai spora dengan kait, *loop* terbuka atau spiral pendek tidak beraturan memiliki 1 sampai 4 putaran; (C) Jenis *Spira*, rantai spora dalam spiral menunjukkan dua subtipe yang berbeda: (a) Tertutup, spiral kompak dan (b) spiral terbuka, longgar, dan membentang; (D) Tipe *Verticillati*, rantai spora terbentuk melingkar dan bercabang di umbel. Genus tipikal lain yang membentuk spora dalam rantai panjang adalah *Nocardiopsis* (Li et al., 2016).



Gambar 4. Spora dalam rantai panjang. (A) Jenis *Rektifleksibil*, (B) Jenis *Retinaculiaperti*, (C) Jenis *Spira*, (D) Jenis *Verticillati*. *Nocardiosis*: (E) memecah hifa udara dan bercabang (Li *et al.*, 2016).

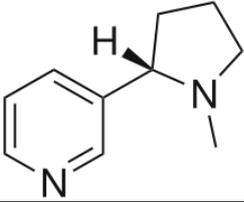
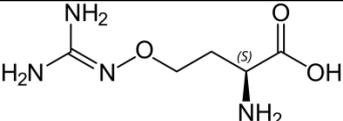
*Actinomycetes* diketahui sebagai mikroorganisme penghasil metabolit sekunder yang memegang peranan penting dalam industri kesehatan. Aktivitas senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *Actinomycetes* mampu menghambat pertumbuhan bakteri maupun jamur. Oleh karena itu, *Actinomycetes* banyak dimanfaatkan dan dikembangkan sebagai obat dalam upaya penanggulangan berbagai macam penyakit, baik pada manusia maupun hewan (Solanki *et al.*, 2008). Sekitar 8.000 senyawa antibiotik dilaporkan dalam buku *bioactive microbial natural product* berasal dari ordo *Actinomycetales*. Hal ini menunjukkan bahwa *Actinomycetes* sangat berperan penting dalam industri kesehatan dan sangat menarik dengan kemampuannya menghasilkan metabolit sekunder yang penting. Selain itu, genus *Streptomyces* merupakan genus penghasil antibiotik terbesar, dimana dilaporkan sekitar ~70% antibiotik berasal dari genus ini (Berdy, 2005).

## 2.5 Metabolit Sekunder

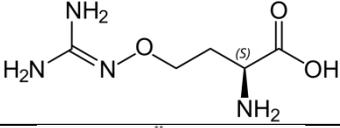
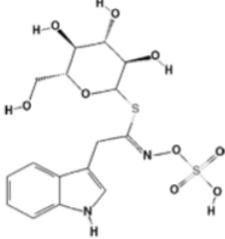
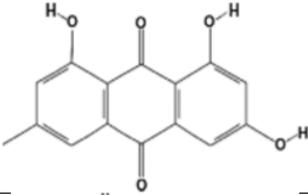
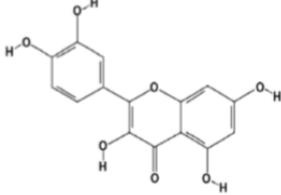
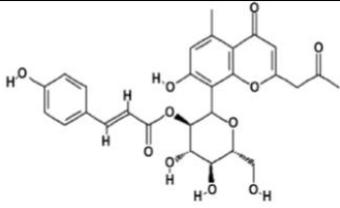
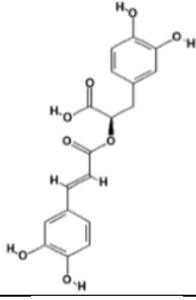
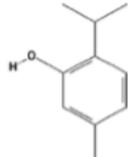
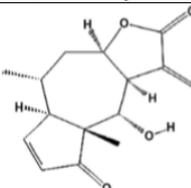
Metabolit sekunder adalah senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda-beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme biasanya menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, bahkan mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini juga tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu. Fungsi metabolit sekunder adalah untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator, dan sebagai molekul sinyal. Singkatnya, metabolit sekunder digunakan organisme untuk berinteraksi dengan lingkungannya. Metabolit sekunder diproduksi oleh bakteri, *Actinomycetes*, jamur, tumbuhan, dan hewan (Kumar *et al.*, 2020).

Klasifikasi metabolit sekunder secara sederhana terbagi kedalam tiga kelompok utama yaitu terpen (misalnya volatil, glikosida kardiak, karotenoid, dan sterol), fennolik (misalnya asam fenolat, kumarin, lignan, stilbena, flavonoid, tanin, dan lignin), dan senyawa yang mengandung nitrogen (misalnya alkaloid dan glukosinolat) (Agostini-Costa *et al.*, 2012).

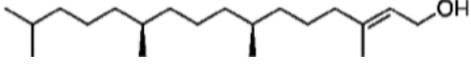
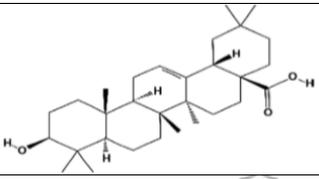
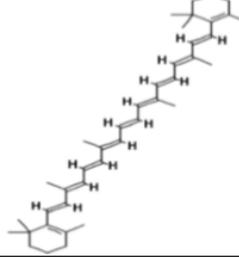
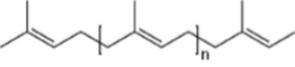
Tabel 1. Kelompok utama metabolit sekunder (Anggraito dkk, 2018)

Kelas senyawa	Contoh	Struktur
Alkaloid	Nikotin	
Asam amino nonproteinogenik	Kanavanin	

Tabel 1. (Lanjutan)

Kelas senyawa	Contoh	Struktur
Glikosida sianogenik	Linamarin	
Glikosinolat mengandung N dan S	Glukobrasisin	
Antrakuinon tanpa N	Emodin	
Flavonoid	Kuersetin	
Poliketida	Aloresin	
Fenilpropanoid	Asam rosmarinat	
Monoterpen	Thimol	
Seskuiterpen	Helenalin	

Tabel 1. (Lanjutan)

Kelas senyawa	Contoh	Struktur
Diterpen	Fitol	
Triterpen	Asam oleanolat	
Tetraterpen	$\beta$ -karoten	
Politerpen	Karet	

## 2.6 Fermentasi padat/*Solid-State Fermentation* (SSF)

Fermentasi padat/*solid-state fermentation* (SSF) didefinisikan sebagai proses fermentasi yang memanfaatkan matriks padat yang mengandung kelembapan yang cukup untuk mendorong pertumbuhan mikroba tanpa tambahan air bebas (Singhania *et al.*, 2015). Namun, substrat harus memiliki kelembapan yang cukup untuk mendukung pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Kelembapan yang diperlukan dalam SSF ada dalam bentuk yang diserap atau kompleks dalam matriks padat, yaitu: cenderung lebih menguntungkan untuk pertumbuhan karena kemungkinan proses transfer oksigen yang efisien. Pada metode SSF, kadar air yang terkandung cukup rendah dan mikroorganisme hampir masuk kontak dengan oksigen gas di udara, tidak seperti dalam fermentasi terendam (SmF). Proses SSF dilakukan di bawah kondisi yang terkendali dan akan menghasilkan produk berharga seperti enzim dan metabolit sekunder (Raghavarao *et al.*, 2003).

## 2.7 Kromatografi

Kromatografi merupakan suatu proses pemisahan yang mana analit-analit pada sampel terdistribusi antara 2 fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam dapat berupa bahan padat atau porus dalam bentuk molekul yang kecil, atau dalam bentuk cairan yang dilapiskan pada pendukung padat atau dilapiskan pada dinding kolom. Fase gerak dapat berupa gas ataupun cairan, jika digunakan sebagai fase gerak, maka prosesnya dikanal sebagai kromatografi gas. Fase gerak yang sering digunakan dalam kromatografi lapis tipis selalu cair (Rohman, 2007).

### 2.7.1. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

KLT merupakan bentuk kromatografi planar, fase diamnya berupa lapisan yang seragam pada permukaan bidang datar dilapiskan pada lempeng kaca, plat aluminium, atau plat plastik. 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).

Larutan deteksi serium sulfat digunakan untuk mengetahui komponen metabolit sekunder atau senyawa organik yang sudah ada di dalam ekstrak yang ditandai dengan munculnya noda coklat kehitaman. Uji spesifik juga dilakukan menggunakan pereaksi *Dragendorff* untuk menguji kandungan alkaloid (gugus N tersier) pada ekstrak yang ditandai dengan munculnya noda jingga/merah bata. Pengamatan dengan UV<sub>254</sub> nm dilakukan untuk mengetahui senyawa-senyawa yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.

Nilai  $R_f$  noda dihitung untuk mengetahui tingkat kepolaran komponen senyawa yang dideteksi dan warna yang timbul dicatat untuk menyimpulkan golongan senyawa yang dideteksi. KLT digunakan untuk analisis senyawa organik terlarut terutama dalam bidang kimia untuk analisa kualitatif dengan membandingkan jarak noda sampel dari garis awal dengan jarak pelarut dari garis awal (Gandjar dan Rohman, 2007).

$$R_f = \frac{\text{Jarak noda sampel dari garis awal}}{\text{Jarak pelarut dari garis awal}}$$

Komponen yang lebih polar tertahan lebih lama di fase diam dan memiliki nilai  $R_f$  kecil, sedangkan komponen yang kurang polar bergerak lebih jauh bersama fase gerak dan memiliki nilai  $R_f$  besar.

### **2.7.2. Kromatografi Kolom**

Kromatografi kolom merupakan suatu teknik pemisahan dan pemurnian yang sederhana dan paling populer. Metode ini dapat digunakan dalam pemisahan dan pemurnian sampel padat maupun cair. Kromatografi kolom terdiri dari fase padat dan fase diam yang mengadsorpsi dan memisahkan senyawa yang melaluinya dengan bantuan fase gerak cair. Dalam kromatografi kolom terdapat berbagai fase diam yang dapat digunakan, seperti silika, alumina, kalium fosfat, kalsium karbonat, pati, dan magnesium. Komposisi pelarut yang digunakan dalam metode ini komposisi pelarut yang akan digunakan disesuaikan berdasarkan sifat senyawa yang akan dipisahkan dan diisolasi (Srivastava *et al.*, 2021).

Kromatografi kolom digunakan untuk pemisahan campuran beberapa senyawa yang diperoleh dari hasil isolasi. 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 ke dalam 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, 2021).

## 2.8 Metode Uji Bioaktivitas

Uji bioaktivitas antibakteri merupakan suatu metode untuk menentukan tingkat kerentanan bakteri terhadap zat antibakteri dan untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktivitas antibakteri. Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran (dilusi) (Pratiwi, 2008). Metode difusi dan metode dilusi terbagi menjadi beberapa metode, yaitu:

Metode difusi adalah pengukuran dan pengamatan diameter zona bening yang terbentuk di sekitar cakram, dilakukan pengukuran setelah didiamkan selama 18-24 jam dan diukur menggunakan jangka sorong (Sari dkk, 2013)

- a. Metode *disc diffusion* atau metode Kirby Baure, metode ini menggunakan kertas cakram yang berisi zat antimikroba dan diletakkan pada media agar yang telah ditanami bakteri uji.
- b. Metode *E-Test* digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimum), yaitu konsentrasi minimal zat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji. Metode ini menggunakan strip plastik yang telah berisi zat antibakteri dan diletakkan pada media agar.
- c. *Ditch plate technique*, zat antimikroba diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media agar dalam cawan petri pada bagian tengah secara membujur dan bakteri uji digoreskan ke arah parit.
- d. *Cup-plate technique*, metode ini hampir sama dengan metode *disc diffusion* namun bedanya tidak menggunakan kertas. Pada media agar dibuat sumur, dan pada sumur tersebut diberi zat antimikroba.

e. *Gradient-plate technique*, media agar dicairkan dan ditambahkan larutan uji kemudian campuran tersebut dituangkan ke dalam cawan petri dan diletakkan dalam posisi miring.

Metode dilusi dibedakan mejadi dua, yaitu:

- a. Metode dilusi cair/ *broth dilution test*, digunakan untuk mengukur KHM dan KBM. Zat antimikroba diencerkan pada medium cair yang telah ditambahkan bakteri uji. Larutan antimikroba dengan kadar terkecil dan terlihat jernih ditetapkan sebagai KHM. KHM dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri dan zat antimikroba, kemudian diinkubasi selama 18-24 jam. Media yang tetap cair ditetapkan sebagai KBM.
- b. Metode dilusi padat/ *solid dilution test*, metode ini hampir sama dengan metode dilusi cair, namun menggunakan media padat. Metode dilusi padat dapat menguji beberapa macam bakteri dalam satu konsentrasi zat antimikroba.

## 2.9 Karakterisasi

### 2.9.1. Spektroskopi LC-MS/MS

*Liquid chromatography-tandem mass spectrometry* (LC-MS/MS) atau Kromatografi cair kinerja ultra tinggi-tandem spektrometri massa (KCKUT-SM/SM) adalah teknik analisis kombinasi dari kromatografi cair sebagai pemisah komponen-komponen analit dalam sampel, dengan spektrometri massa sebagai detektor. LC-MS/MS merupakan teknik analisis kualitatif dan kuantitatif yang efektif dengan berbagai aplikasi, seperti aplikasi klinis, termasuk pemantauan terapi obat (TDM), toksikologi, endokrinologi, pediatri, mikrobiologi, dan proteomik. Prinsip tandem spektrometri massa didasarkan pada penggunaan dua spektrometer massa bersama-sama untuk menganalisis campuran sampel. Metode ini menggunakan dua penganalisis massa yang disusun secara berurutan dengan sel kolision (*collision cell*) di antara keduanya. Penganalisis massa digunakan

untuk memilih rasio massa terhadap muatan ( $m/z$ ) tertentu. Penganalisis massa pertama menganalisa rasio  $m/z$  dari ion induk, kemudian pada sel kolision ion induk bertabrakan dengan molekul gas dan terfragmentasi menjadi ion yang lebih kecil dan diperoleh rasio  $m/z$  pada penganalisa masa kedua sebagai ion produk (Harmita dkk, 2019).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Maret 2022-Agustus 2024 di Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT-LTSIT), Universitas Lampung.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas (gelas ukur, gelas beker, erlenmeyer, pipet tetes, labu ukur, pengaduk gelas, tabung reaksi, cawan petri, corong, kaca preparat, botol *vial*, labu bulat, pipa kapiler), spatula, kertas saring, aluminium foil, kapas, gunting, *microplate 96-well* IWAKI, mikrotip, plat silika gel 60<sub>F254</sub>, alas labu bulat, plastik wrap, pinset, jarum ose bulat, bunsen, *autoclave* Tomy SX-700, *vacuum rotary evaporator* Buchi R210, *laminar air flow* ESCO/AVC4A1, mikroskop Axio Zeiss A1, saringan, *drying oven* Jisico, sentrifuse, mikropipet DragonLab, *hot plate*, lemari asam, neraca analitik Wigen Houser, Spektrometer LC-MS/MS.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit udang, koloid kitin, agar, akuades, air laut buatan (0,07%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,03%  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,01%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dan 0,7%  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  garam mineral), spiritus, alkohol 70%, NaOH 5%, HCl 1M, HCl pekat, etil asetat, metanol teknis, metanol 12,5%, n-heksana teknis, isopropanol (IPA), *Tryptic Soy Broth* Merck (TSB), bakteri *P. aeruginosa*

dan *S. aureus*, resazurin, antibiotik generik *ciprofloxacin* NOVELL dan antibiotik *chloramphenicol*.

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Biomaterial

##### 3.3.1.1. Isolat *Actinomycetes*

Pada penelitian ini, isolat *Actinomycetes* (18A13O1, 19A07A1, 19C32A1, dan 19C38A1) yang dipilih didapat dari strain UPT LTSIT yang diisolasi dari spons dan tunikata di perairan Singaraja Buleleng, Bali (8<sup>0</sup>07'07. 6"LS 114<sup>0</sup>33'38. 9"BT) dan Gorontalo di Pantai Oluwuta Teluk Tomina, Kabupaten Bone Bolango (0<sup>0</sup>25'15. 0"N123<sup>0</sup>08'42. 9"E), pengambilan sampel spons menggunakan teknik SCUBA *diving* pada kedalaman 15-30 m. Bakteri patogen yang digunakan yaitu *P. aeruginosa* dan bakteri *S. Aureus* yang didapat dari hasil isolasi sampel kulit pasien RSUD Abdoel Moeloek, Bandar Lampung. Bakteri dipelihara dalam media TSB 3%.

##### 3.3.1.2. Pembuatan kitin dan koloid kitin

Limbah kulit udang didapatkan dari pasar Gudang Lelang, Lempasing, Bandar Lampung. Setelah didapatkan limbah kulit udang, kepala dan cangkang dibersihkan, dikeringkan, dan dihaluskan. Kitin dibuat dari bubuk kasar kulit udang kering yang ditambahkan 5% NaOH dengan rasio 1:10, kemudian dipanaskan selama 1 jam pada suhu  $\pm 80^{\circ}\text{C}$ , disaring dan dinetralisasi sampai pH  $\pm 7$ . Kemudian, residu ditambahkan 1 M HCl dengan rasio 1:10, kemudian diaduk, disaring dan dikeringkan dalam oven pada temperature  $\pm 60^{\circ}\text{C}$ . Bubuk

yang dihasilkan merupakan kitin (hasil dari deproteinasi dan demineralisasi kulit udang).

Sebanyak 10 gram kitin ditambahkan secara perlahan  $\pm$  150 ml HCl pekat, diaduk selama 30 menit, ditambahkan 2 L air destilat, diaduk, dan diamkan hingga suspensi terbentuk. Selanjutnya, sedimen (koloid kitin) dibilas dengan air destilasi dan disentrifus selama 15 menit dengan kecepatan 7000 rpm hingga didapatkan pH netral. Endapan dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 121<sup>0</sup>C selama 15 menit, dan disimpan dalam pendingin selama seminggu.

### 3.3.2 Peremajaan *Actinomycetes*

Peremajaan isolat *Actinomycetes* (18A13O1, 19A07A1, 19C32A1, dan 19C38A1) dilakukan pada media agar koloid kitin 1% mengacu pada (Hsu and Lockwood, 1975) dengan modifikasi. Media agar koloid kitin 1% terdiri dari 1% koloid kitin dan 2% agar yang dilarutkan dalam 100 mL air laut buatan. Kemudian, disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121<sup>0</sup>C dengan tekanan 1,2 atm selama 15 menit. Media koloid kitin dituang ke dalam cawan petri untuk mempersiapkan media *agar plate*. Peremajaan dilakukan dengan mengambil strain yang terdiri dari 1 koloni menggunakan ose kemudian dipindahkan pada media *agar plate* koloid kitin 1% lalu diinkubasi pada suhu 28<sup>0</sup>C selama 7 hari.

### 3.3.3 Identifikasi *Actinomycetes*

Morfologi koloni *Actinomycetes* yang terisolasi diidentifikasi secara makroskopi dan mikroskopi. Identifikasi makroskopi dilakukan dengan mengamati miselium substrat dan miselium aerial isolat. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan metode *coverslip* 45<sup>0</sup> mikroskopi yang mengacu pada (Sapkota *et al.*, 2020) dengan sedikit modifikasi. *Coverslip* ditanam ke dalam

media koloid kitin 1% dengan 2% agar dengan sudut 45°. Kemudian isolat digoreskan dengan menggunakan ose pada media agar dekat *coverslip* yang sudah ditanam dan diinkubasi selama 3-4 hari. *Coverslip* dicabut dengan menggunakan pinset steril dan diletakkan diatas kaca preparat, lalu diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x. Morfologi isolat *Actinomycetes* diidentifikasi dengan mengacu pada (Li *et al.*, 2016) pada bukunya yang berjudul *Morphological Identification of Actinobacteria, Chapter 3, Actinobacteria-Basic's and Biotechnological Applications*.

### 3.3.4 Kultivasi dan Ekstraksi

Kultivasi *Actinomycetes* dilakukan pada media kulit udang berdasarkan (Nidheesh *et al.*, 2015) dengan modifikasi. Kultur murni *Actinomycetes* ditumbuhkan dalam media inokulum koloid kitin cair 1% dan diinkubasi selama 7 hari. Inokulum *Actinomycetes* ditumbuhkan ke dalam media fermentasi berupa media kulit udang dengan perbandingan antara inokulum dan media fermentasi adalah 1:10 dan diinkubasi selama 14 hari pada suhu 28°C. Ekstraksi *Actinomycetes* dilakukan berdasarkan (Setiawan *et al.*, 2021) dengan modifikasi. Biomassa *Actinomycetes* dilakukan maserasi menggunakan pelarut etil asetat dengan perbandingan 1:2 selama 24 jam. Setelah 24 jam filtrat disaring dan diuapkan pelarutnya dengan penguapan di bawah tekanan pada suhu 40°C dan ekstrak kering yang didapatkan selanjutnya ditimbang untuk melihat berat yang didapat.

### 3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis kualitatif kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan pada plat silika gel 60<sub>F254</sub> berdasarkan (Kagan & Flythe, 2014) dengan modifikasi, dengan eluen n-heksana-IPA dengan perbandingan 9:1. Ekstrak ditotolkan pada plat silika, lalu dielusi dengan eluen hingga batas atas. Kemudian disinari dengan sinar UV<sub>254nm</sub>

dan dimasukkan ke dalam pereaksi serum sulfat dan pereaksi *Dragendorff* lalu dipanaskan. Setelah itu nilai *Rf* dari noda yang terbentuk dihitung.

### 3.3.6 Uji Bioaktivitas Antibakteri

Uji bioaktivitas antibakteri *Actinomycetes* diuji terhadap bakteri *P. aeruginosa* dan *S. aureus* menggunakan metode mikrodilusi dalam *microplate* 96-well sesuai dengan (Coban *et al.*, 2006) dengan sedikit modifikasi. Secara singkat, larutan stok ekstrak diencerkan menjadi 2000ppm dengan metanol 12,5%. Kemudian 50µL sampel dimasukkan ke dalam masing-masing *well* dengan 3 kali pengulangan untuk setiap sampelnya. *Ciprofloxacin* dan *chloramphenicol* digunakan sebagai kontrol positif dan metanol 12,5% sebagai kontrol negatif. 25µL inokulum bakteri yang sudah diukur sesuai dengan standar *Mc Farland* ditambahkan ke dalam setiap *well* yang berisi sampel kemudian diinkubasi selama 18 jam pada suhu 28<sup>0</sup>C. Setelah diinkubasi selama 18 jam, diukur nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)-nya. Lalu 30µL resazurin ditambahkan ke dalam setiap *well* dan diinkubasi kembali selama 2 jam pada suhu 28<sup>0</sup>C. Setelah 2 jam diukur kembali nilai MIC-nya.

### 3.3.7 Fraksinasi dan Purifikasi

Ekstrak kasar yang memiliki bioaktivitas sebagai antibakteri dilakukan uji KLT dan selanjutnya dipartisi menggunakan corong pisah dengan pelarut yang sesuai. Fasa yang diinginkan dipekatkan dengan menggunakan *vacuum rotatory evaporator*. Setelah itu dilakukan uji KLT pada ekstrak yang didapat. Ekstrak yang telah diuji KLT, difraksinasi dengan menggunakan metode kromatografi kolom yang dibuat dengan kolom berisi fase diam dan elusi dilakukan dengan gradien pelarut (Markham, 2008). Setiap fraksi yang didapat ditampung ke dalam botol-botol *vial*. Uji KLT selalu dilakukan hingga didapatkan fraksi murni.

Purifikasi dilakukan berdasarkan metode *bioassay-guided separation*. Fraksi murni disimpan di dalam botol *vial*.

### 3.3.8 Uji difusi agar

Sebanyak 1mL suspensi bakteri dengan kepadatan sel  $10^6$  sel/mL dimasukkan ke dalam cawan petri steril, kemudian ditambahkan 15mL *Nutrient agar* cair. Cawan petri kemudian digoyangkan berlawanan arah jarum jam sebanyak 5-10x dan digoyangkan lagi searah jarum jam sebanyak 5-10x agar media dan suspensi tercampur. Pembuatan media dilakukan di dekat api bunsen dalam *Laminar Air Flow*. Setelah agar memadat, setiap cawan petri dibuat diagram 6 bagian. Kertas cakram kontrol positif, kontrol negatif dan cakram yang telah dijenuhkan dengan larutan ekstrak, diletakkan pada masing-masing bagian dan kemudian diinkubasi pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam (Nufailah, 2008). Uji antibakteri ini dilakukan pengulangan tiga kali. Area jernih disekeliling cakram menunjukkan tidak adanya pertumbuhan bakteri yang kemudian diukur menggunakan mistar. Hasil pengukuran zona hambat diklasifikasikan berdasarkan Tabel 2.

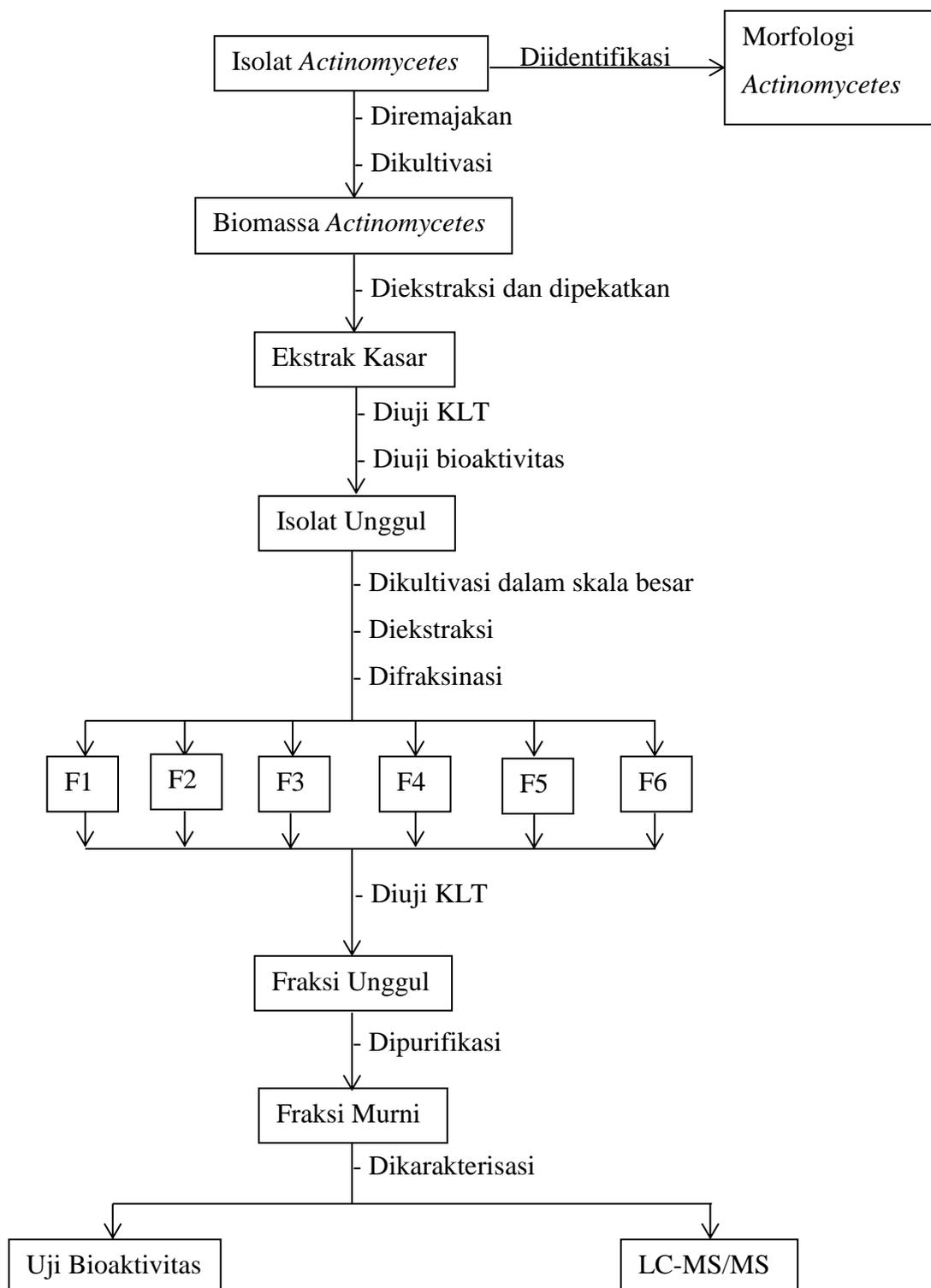
Tabel 2. Klasifikasi Aktivitas Antibakteri

Diameter zona hambat (mm)	Aktivitas antibakteri
<10	Tidak aktif
11-15	Lemah
16-20	Sedang
>20	Kuat

### **3.3.9 Karakterisasi**

Fraksi aktif yang sudah murni dikarakterisasi lebih lanjut yang dilakukan secara spektrometri. Karakterisasi secara spektrometri dilakukan dengan menggunakan spektrometer LC-MS/MS yang dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik, Badan Reserse Kriminal Polri, Bogor.

### 3.3.10 Diagram Alir Penelitian



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat 18A13O1, 19A07A1, 19C32A1, dan 19C38A1 dapat tumbuh dengan baik pada media kulit udang.
2. Isolat 19C38A1 menjadi kandidat isolat unggul penghasil senyawa antibakteri terhadap *S. aureus* dan *P.aeruginosa* resisten.
3. Isolat 19C38A1 mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid golongan piridin dan kuinazolin.

### 5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh pada penelitian ini, untuk penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan pemurnian lebih lanjut hingga diperoleh senyawa target yang murni lalu dilakukan elusidasi struktur dengan NMR.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agostini-costa, T.D.S., R.F. Vieira., H.R. Bizzo., D. Silveira., and M.A. Gimenes. 2012. Secondary Metabolites. Edited by S. Dhanarasu. Brasilia. IntechOpen. Doi: 10.5772/35705.
- Alsibae, A.M., H.M. Al-Yousef., and H.S. Al-Salem. 2023. Quinazolinones, the Winning Horse in Drug Discovery. *Molecules*. 28. 978. <https://doi.org/10.3390/molecules28030978>.
- Anggraini, W., S.C. Nisa., R.R. DA., dan B.M. ZA. 2019. Aktivitas Antibakteri Ekstrak etanol 96% Buah Blewah (*Cucumis melo L. Var. Cantalupensis*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherechia coli*. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 5(1). 61-66.
- Anggraito, Y.U., R. Susanti., R.S. Iswari., A. Yuniastuti., Lisdiana., N. WH., N.A. Habibah., S.H. Bintari., dan M. Dafip. 2018. *Metabolit Sekunder dari Tanaman: Aplikasi dan Produksi*. Fakultas MIPA Universitas Negeri Semarang. Semarang. Hal: 3-5.
- Anonim. 2024. *Pseudomonas aeruginosa*. (<https://www.cdc.gov/pseudomonas-aeruginosa/about/index.html>).
- Anonim. 2024. *Staphylococcus aureus*. ([https://id.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus\\_aureus](https://id.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus)).
- Barrios-Gonzalez, J., Fernandez, F. J., Tomasini, A., & Mejia, A. 2005. Secondary Metabolites Production by Solid-State Fermentation. *Malaysian Journal of Microbiology, January*. <https://doi.org/10.21161/mjm.110501>.

- Berdy, Janos. 2005. Bioactive Microbial Metabolites. *Journal of Antibiotics*. 58(1). 1-26.
- Center for Disease Control and Prevention. 2019. *Antibiotic resistance threats in the United States*. Atlanta: U.S. Department of Human and Human Services.
- Center for Disease Control and Prevention. 2024. *COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance*. Atlanta: U.S. Department of Human and Human Services.
- Chen, Y., Yong, M., Li, M., Si, Z., Koh, C. H., Lau, P., ... & Gan, Y. H. 2023. A hydrophilic polyimidazolium antibiotic targeting the membranes of Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 78(10). 2581-2590.
- Coban, A.Y., Bozdogan, B., Cihan, C.C., Cetinkaya, E., Bilgin, K., Darka, O., Akgunes, A., Durupinar, B., & Appelbaum, P.C. 2006. Two new colorimetric methods for early detection of vancomycin and oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(2), 580–582.
- Dharmayanti, I. G. A. M. P., & Sukrama, D. M. 2019. Karakteristik Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan Pola Kepekaannya Terhadap Antibiotik di Intensive Care Unit (ICU) RSUP Sanglah pada Bulan November 2014 – Januari 2015. *E-Jurnal Medika*, 8(4), 1–3. <https://doi.org/10.1002/9781119009924.eopr0398>.
- Direktorat Jendral Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan, 2010.
- Dong, J.W., Cai, L., Li, X.J., Duan, R.T., Shu, Y., Chen, F.Y., Wang, J.P., Zhou, H., Ding, Z.-T. 789 2016. Production of a new tetracyclic triterpene sulfate metabolite sambacide by solid-state 790 cultivated *Fusarium sambucinum* B10.2 using potato as substrate. *Bioresour. Technol.* 218, 791 1266-1270.
- Gandjar, I. G., and Abdul, R. 2007. *Kimia Farmasi Analisa*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Harmita, A.A., Harahap, Y., Supandi. 2019. *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)*. ISFI Penerbitan. Jakarta. Hal. 64.

Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry in 1st ed.* Hlm. 369;372;402.

Hoiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., Ciofu, O. 2010. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 35(4): 322-32.

Islam, Md.B., Md.I. islam., N. Nath., T.B. Emran., Md.R. Rahman., R. Sharma., and M.M. Matin. 2023. Recent Advances in Pyridine Scaffold: Focus on Chemistry, Synthesis, and Antibacterial Activities. *BioMed Research International*. Volume 2023. Issue 1. 9967591.

Jagannathan, S. V., Manemann, E. M., Rowe, S. E., Callender, M. C., & Soto, W. 2021. Marine actinomycetes, new sources of biotechnological products. *Marine Drugs*. 19(7). 365.

Jahn, M.T. 2019. Physiology, Syntrophy and Viral Interplay in the Marine Sponge Holobiont. *Ph.D. Dissertation*. Christian-Albrechts-Universität Kiel. Kiel. Germany.

Johnson, E. L. and Stevenson, R. 2021. *Dasar Kromatografi Cair*. Diterjemahkan oleh Padmawinata, K. Penerbit ITB. Bandung. Hal. 365.

Kagan, I. A., & Flythe, M. D. 2014. Thin-Layer Chromatographic (TLC) separations and bioassays of plant extracts to identify antimicrobial compounds. *Journal of Visualized Experiments*, 85, 1–8. <https://doi.org/10.3791/51411>.

Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., & Jiang, C. 2016. Morphological Identification of Actinobacteria. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*, i. <https://doi.org/10.5772/61461>.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., Clark, D.P. 2008. *Biology of Microorganism 12th edition*. Pearson. San Fransisco.

Malathi, B. R., Abirami, S., & Gayathri, C. 2021. In Vitro Screening and Identification of Bioactive Compound Producing Marine Actinomycetes from Thoothukudi Coastal Water. *Annals of R.S.C.B.*, 25(4).

- Markham, K.R. 2008. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB. Bandung.
- Mishra, M.P., Rath, S., Swain, S.S., Ghosh, G., Das, D., & Padhy, R.N. 2017. In vitro antibacterial activity of crude extracts of 9 selected medicinal plants against UTI causing MDR bacteria. *Journal of King Saud University-Science*, 29(1), 84–95.
- Mulani, M.S., Kamble, E.E., Kumkar, S.N., Tawre, S.M. and Pardesi, K.R. 2019. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review. *Frontiers in Microbiology*. 10. 1-24.
- Navidinia, Masoumeh. 2016. The clinical importance of emerging ESKAPE pathogens in nosocomial infection. *Journal of Paramedical Sciences (JPS)*. 7(3), 43-57.
- Nidheesh, T., Pal, G. K., & Suresh, P. V. 2015. Chitooligomers preparation by chitosanase produced under solid state fermentation using shrimp by-products as substrate. *Carbohydrate Polymers*, 121, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.12.017>.
- Ooi, C. K., Rasit, N., & Abdullah, W. R. W. 2021. Optimization of protease from aspergillus niger under solid-state fermentation utilizing shrimp shell substrate. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(6), 14809–14824. <https://doi.org/10.33263/BRIAC116.1480914824>.
- Pratiwi. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Erlangga. Jakarta.
- Pratiwi, R.S., Susanto, T.E. Wardani, Y.A.K., Sutrisno, A. 2015. Enzim kitinase dan aplikasi dibidang industri: Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(3). 878-887.
- Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A. 2002. *Microbiology 5th edition*. Mc.Graw-Hill. Boston.
- Raghavarao, K.S.M.S., Ranganathan, T.V., Karanth, N.G. 2003. Some Engineering aspects of solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 13. 127-135.

- Rajendran, K., Krishnamoorthy, M., Karuppiyah, K., Ethiraj, K., & Sekar, S. 2024. Chitinase from *Streptomyces mutabilis* as an effective eco-friendly biocontrol agent. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(1), 18-31.
- Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Sapkota, A., Thapa, A., Budhathoki, A., Sainju, M., Shrestha, P., & Aryal, S. 2020. Isolation, Characterization, and Screening of Antimicrobial-Producing Actinomycetes from Soil Samples. *International Journal of Microbiology*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/2716584>
- Sari, M., Arismayanti, E., Kusharyoto, W. 2016. Optimisasi Uji Berbasis Reduksi Resazurin Dalam Menghambat Aktivitas Mycobacterium Bovis Strain BCG 43756. *Jurnal Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon.* 2:189-192.
- Sarwanto, C., Sjarief.I.N., Susanto, H., Solah. A., Kurnia, I., Aryshandy, C., Kusumah, D., Horida, E., Wahyuni, S., Moriansyah, L., Purnama, N.D., Wicaksono, R. 2018. *Profil peluang investasi komoditas udang*. Kementerian Kelautan dan Perikanan. 23 hlm.
- Schrempf, H. 2001. Recognition and degradation of chitin by streptomycetes. *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology*, 79(3-4), 285-289. <https://doi.org/10.1023/A:1012058205158>.
- Setiawan, A., Widyastuti, W., Irawan, A., Wijaya, O. S., Laila, A., Setiawan, W. A., Juliasih, N. L. G. R., Nonaka, K., Arai, M., & Hendri, J. 2021. Fermentation shrimp shell waste in solid state using *pseudonocardia carboxydovorans* 18a13o1 to produce bioactive metabolites. *Fermentation*, 7(4), 1-10. <https://doi.org/10.3390/fermentation7040247>.
- Singh, S., Kumar, P., Gopalan N., Shrivastava B., Kuhad, R.C., Chaudary H.S. 2012. Isolation and partial characterization of actinomycetes with antimicrobial activity against multidrug resistance bacteria. *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*. S1147-S1150.
- Solanki, R., Khanna, M and Lal, R. 2008. Bioactive Compounds From Marine Actinomycetes. *Indian Journal Microbiol.* 48: 410- 431.

- Srijanto dan Imam. 2005. Optimasi deasetilasi kitin pada udang. *Jurnal Kimia*. 2(5). 1904-9730.
- Srivastava, N., Singh, A., Kumari, P., Nishad, J. H., Gautam, V. S., Yadav, M., Bharti, R., Kumar, D., & Kharwar, R. N. 2021. Advances in extraction technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. In *Natural Bioactive Compounds*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-820655-3.00021-5>.
- Strohl, W.A., Rouse, H., Fisher, B.D. 2001. *Microbiology*. Lippincott Williams & Wilikns. USA.
- Torres, S., Pandey, A., & Castro, G. R. 2011. Organic solvent adaptation of Gram positive bacteria: applications and biotechnological potentials. *Biotechnology advances*. 29(4) 442-452.
- Vastrad, B., Neelagund, S. 2014. Optimization of medium composition for the 1105 production of neomycin by *Streptomyces fradiae* NCIM 2418 in solid state fermentation. 1106 *Biotechnol. Res. Int.* 2014, 674286. <https://doi.org/10.1155/2014/674286>.
- Watson, D. G. 2010. *Analisis farmasi Edisi 2*. EGC. Jakarta. 210 hlm.
- World Health Organization. 2022. *World health statistics 2019-2021: monitoring health for the SDGs, suistainable development goals*. World Health Organization. License: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Zhi, X. Y., Li, W. J and Stackebrandt, E. 2009. An Update of The Structure And 12S Rrna Gene Sequence-Based Definition Of Higher Ranks of The Class Actinobacteria, With the Proposal of Two New Suborders And Four New Families And Emended Descriptions of The Existing Higher Taxa. *Int J Syst Evol Microbiol*. 59:589-608.