

**PROFIL SENYAWA BIOAKTIF DARI *ACTINOMYCETES* 19C38A1  
HASIL KO-KULTIVASI PADA MEDIA LIMBAH SERABUT KELAPA  
SAWIT SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN**

**(Skripsi)**

**Oleh**

**FERA AGISTARIKA  
2117011056**



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

## ABSTRAK

### PROFIL SENYAWA BIOAKTIF DARI *ACTINOMYCETES* 19C38A1 HASIL KO-KULTIVASI PADA MEDIA LIMBAH SERABUT KELAPA SAWIT SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN

Oleh

Fera Agistarika

*Multidrug Resistance* (MDR) merupakan tantangan besar di bidang kesehatan, sehingga diperlukan pencarian agen antibakteri baru dari sumber alami. *Actinomycetes* laut 19C38A1 yang dikultur pada media limbah serabut kelapa sawit merupakan salah satu potensi sumber senyawa bioaktif yang dapat dikembangkan sebagai agen antibakteri terhadap patogen resisten. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bioaktivitas ekstrak *actinomycetes* 19C38A1 yang dikultur pada media limbah serabut kelapa sawit terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, serta mengidentifikasi senyawa bioaktif yang dihasilkan.

Kultur *actinomycetes* 19C38A1 dilakukan secara monokultur dan ko-kultivasi menggunakan metode *Solid State Fermentation* (SSF), kemudian diekstraksi dengan pelarut DCM : MeOH dengan rasio 1 : 1, lalu dipartisi menggunakan air untuk mendapatkan fraksi aktif, dan dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk memisahkan berdasarkan tingkat kepolaran. Uji antibakteri dilakukan secara kualitatif menggunakan metode *Resazurin Microdilution Assay*.

Sampel dengan fraksi DCM menunjukkan kemampuan menghambat aktivitas metabolik *P. aeruginosa* pada konsentrasi 2mg/mL. Karakterisasi fraksi aktif (kode FPa38D) menggunakan LC-MS/MS mengidentifikasi senyawa yang memiliki nilai  $m/z$  227,1758 pada waktu retensi 12,82 menit dengan rumus molekul  $C_{12}H_{22}N_2O_2$ , yang termasuk golongan *diketopiperazine* (DKP). Senyawa tersebut mengindikasikan senyawa (3*S*,6*S*)-3,6-diisobutylpiperazine-2,5-dione. Hasil ini memperkuat potensi pemanfaatan limbah serabut kelapa sawit sebagai media alternatif dalam produksi senyawa antibakteri berbasis *actinomycetes* yang mendukung prinsip keberlanjutan dan pengembangan obat infeksi di masa depan.

**Kata Kunci:** *Actinomycetes*, limbah serabut kelapa sawit, antibakteri, LC-MS/MS, *diketopiperazine*.

## ABSTRACT

### PROFILING OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM CO-CULTIVATED ACTINOMYCETES 19C38A1 ON OIL PALM BIOMASS WASTE MEDIUM FOR ANTIBACTERIAL ACTIVITY AGAINST RESISTANT PATHOGENS

By

Fera Agistarika

Multidrug Resistance (MDR) poses a significant challenge in the healthcare sector, necessitating the search for new antibacterial agents derived from natural sources. Marine actinomycetes strain 19C38A1 cultured on oil palm fiber waste medium represents a potential source of bioactive compounds that can be developed as antibacterial agents against resistant pathogens. This study aims to evaluate the bioactivity of actinomycetes 19C38A1 extracts cultured on oil palm fiber waste medium against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*, as well as to identify the resulting bioactive compounds. Actinomycetes 19C38A1 was cultivated using both monoculture and co-cultivation approaches through the Solid State Fermentation (SSF) method. The resulting biomass was extracted using a DCM:MeOH (1:1) solvent system, followed by partitioning with water to obtain the active fraction, which was then separated based on polarity using Thin Layer Chromatography (TLC). Antibacterial activity was qualitatively assessed using the Resazurin Microdilution Assay. The DCM fraction sample demonstrated the ability to inhibit the metabolic activity of *P. aeruginosa* at a concentration of 2 mg/mL. Characterization of the active fraction (sample code FPa38D) by LC-MS/MS identified a compound with an  $m/z$  value of 227.1758 at a retention time of 12.82 minutes and a molecular formula of  $C_{12}H_{22}N_2O_2$ , presumed to belong to the diketopiperazine (DKP) class. The compound is suspected to be similar to (3S,6S)-3,6-diisobutylpiperazine-2,5-dione. These findings reinforce the potential use of oil palm fiber waste as an alternative medium for producing antibacterial compounds from actinomycetes, supporting sustainability and the development of future anti-infective agents.

**Keywords:** *Actinomycetes*, oil palm fiber waste, antibacterial, LC-MS/MS, diketopiperazine

**PROFIL SENYAWA BIOAKTIF DARI *ACTINOMYCETES* 19C38A1  
HASIL KO-KULTIVASI PADA MEDIA LIMBAH SERABUT KELAPA  
SAWIT SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN**

**Oleh**

**Fera Agistarika**

**Skripsi**

**Sebagai salah satu sayarat untuk mencapai gelar  
SARJANA SAINS**

**Pada**

**Jurusan Kimia**

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



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

Judul : **PROFIL SENYAWA BIOAKTIF DARI  
ACTINOMYCETES 19C38A1 HASIL KO-  
KULTIVASI PADA MEDIA LIMBAH  
SERABUT KELAPA SAWIT SEBAGAI  
ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN  
RESISTEN**

Nama Mahasiswa : **Fera Agistarika**

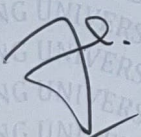
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011056

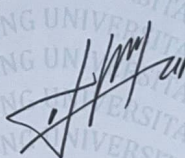
Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

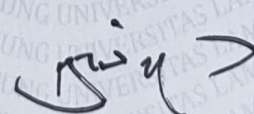


1. Komisi Pembimbing

  
Prof. Drs. Andi Setiawan, Ph.D.  
NIP.195809221988111001

  
Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si.  
NIP.197412111998022001

2. Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerjasama  
FMIPA Universitas Lampung

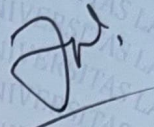
  
Mulyono, S.Si., M.Si., Ph.D.  
NIP. 197406112000031002

**MENGESAHKAN**

1. Tim Penguji

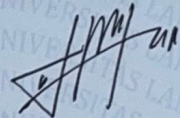
Ketua

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



Sekretaris

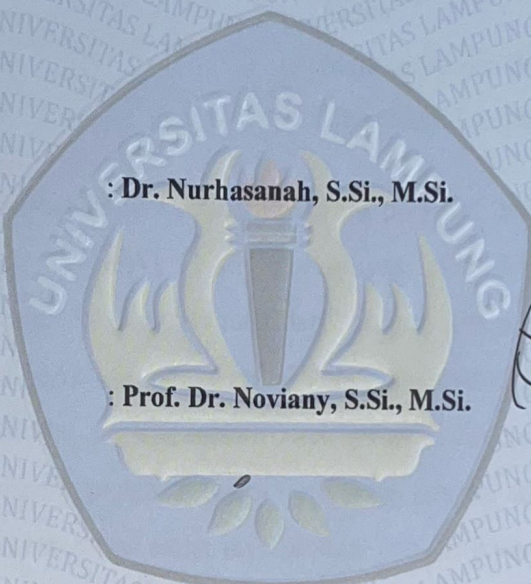
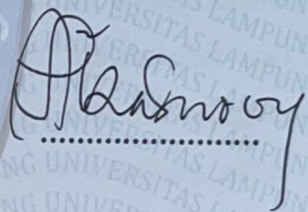
: Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. ....



Penguji Bukan

Pembimbing

: Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. ....



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

NIP. 197110012005011002

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 19 Juni 2025

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fera Agistarika  
Nomor Pokok Mahasiswa : 2117011056  
Jurusan : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul “Profil Senyawa Bioaktif dari *Actinomyces* 19C38A1 Hasil Ko-Kultivasi pada Media Limbah Serabut Kelapa Sawit sebagai Antibakteri terhadap Patogen Resisten” adalah benar hasil karya saya sendiri. Saya menyatakan tidak keberatan apabila isi, data, atau sebagian informasi dari skripsi ini digunakan oleh pihak Universitas Lampung untuk kepentingan akademik, pengembangan ilmu pengetahuan, dan penelitian lanjutan, selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/penyusun karya ilmiah ini.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 24 Juni 2025

Yang Menyatakan,



Fera Agistarika  
NPM. 2117011056

## RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama lengkap Fera Agistarika, lahir di Campang, Kabupaten Tanggamus, Provinsi Lampung, pada tanggal 5 Agustus 2002. Penulis merupakan putri pertama dari dua bersaudara, dari pasangan Bapak Sohibil Hasan dan Ibu Siti Maryanah. Pendidikan dasar ditempuh penulis di SD Negeri 1 Campang dan diselesaikan pada tahun 2014. Selanjutnya,

penulis melanjutkan pendidikan di SMP Negeri 1 Sumberejo dan lulus pada tahun 2017. Pendidikan menengah atas dijalani di SMA Negeri 1 Sumberejo jurusan Ilmu Pengetahuan Alam (IPA), dan diselesaikan pada tahun 2020. Pada tahun 2021, penulis diterima sebagai mahasiswa Program Studi Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung, penulis aktif dalam organisasi kemahasiswaan, khususnya di Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI). Penulis memulai keterlibatannya sebagai pengurus muda pada periode 2021, kemudian menjadi bagian dari pengurus inti HIMAKI periode 2022, serta menjabat sebagai Sekretaris Biro Usaha Mandiri pada periode 2023. Dalam organisasi tersebut, penulis aktif mengikuti berbagai kegiatan, pelatihan, dan program kerja baik di tingkat jurusan, fakultas, universitas, maupun nasional. Aktivitas tersebut memberikan pengalaman berorganisasi, komunikasi, dan manajemen waktu yang sangat bermanfaat dalam pengembangan *soft skill* dan kepemimpinan.

Pada tahun 2024, penulis mengikuti program Kuliah Kerja Nyata (KKN) yang dilaksanakan di Desa Rejomulyo, Kecamatan Jati Agung, Kabupaten Lampung Selatan, sebagai bentuk pengabdian kepada masyarakat. Selain itu, penulis juga menjalani program Praktik Kerja Lapangan (PKL) di UPA Laboratorium Terpadu Universitas Lampung, dengan topik berjudul “Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder dari Isolat Aktinomisetes sebagai Antibakteri Patogen Resisten”. Topik tersebut kemudian dikembangkan lebih lanjut menjadi penelitian tugas akhir, yang berjudul “Profil Senyawa Bioaktif dari *Actinomycetes* 19C38A1 Hasil Ko-Kultivasi pada Media Limbah Serabut Kelapa Sawit sebagai Antibakteri terhadap Patogen Resisten”. Penelitian ini dilaksanakan di UPA Laboratorium Terpadu Universitas Lampung sebagai bagian dari syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si).

## **MOTTO**

*“Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap”*

**(QS. Al-Insyirah: 7-8)**

*“Jika kamu berbuat baik (berarti) kamu berbuat baik untuk dirimu sendiri. Dan jika kamu berbuat jahat, maka (kerugian kejahatan) itu untuk dirimu sendiri”*

**(QS. Al-Isra: 7)**

*“It’s not always easy, but that’s life. Be Strong, because there are better days ahead”*

**(Mark Lee)**

## PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang

Dengan mengucap *Alhamdulillah robbil 'alamin* atas ridho Allah dengan segala rasa syukur, karya sederhana ini kupersembahkan untuk:

### **Keluargaku tersayang**

Ayah, ibu, dan adikku yang selalu mendoakan, mendukung, dan menjadi sumber kekuatan dalam setiap langkah hidupku.

Dengan rasa hormat kepada:

**Bapak Prof. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D., Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si., Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si., dan Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri, A.S., M.S.** serta seluruh dosen Kimia FMIPA Unila, terima kasih atas ilmu, bimbingan, dan arahan yang berarti dalam proses akademik ini.

Teman-teman seperjuangan yang telah memberikan doa, semangat dan dukungan dalam proses panjang ini

*Almamater Universitas Lampung.*

## SANWACANA

*Alhamdulillah robbil 'alamin* segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik, dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Profil Senyawa Bioaktif dari *Actinomyces* 19C38A1 Hasil Ko-Kultivasi pada Media Limbah Serabut Kelapa Sawit sebagai Antibakteri terhadap Patogen Resisten”** sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, penulis menyampaikan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Kepada Ayah dan Ibu, yang dari tangan dan hatinya penulis tumbuh. Terima kasih telah mengajarkan bahwa keberhasilan bukan tentang cepat sampai, tapi tentang tidak menyerah. Semoga sedikit pencapaian ini bisa menjadi awal dari jalan pulang yang layak untuk dibanggakan.
2. Bapak Prof. Drs. Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D. selaku dosen pembimbing I saya yang telah dengan sabar membimbing, memberikan saran, dan motivasi selama proses penyusunan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Nurhasanah, S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing II yang telah memberikan banyak arahan dalam penyusunan skripsi ini.
4. Ibu Prof. Dr. Noviany, S.Si., M.Si. selaku dosen pembahas yang telah memberikan banyak masukan hingga terselesaikannya skripsi ini

5. Bapak Prof. Dr. Ir. Yandri, A.S., M.S. selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan arahan selama proses perkuliahan.
6. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung, yang telah memberikan dukungan dan arahan selama proses perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini.
7. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku dekan FMIPA Universitas Lampung.
8. Adik penulis, Rafi Kholul Mustofa terima kasih atas kebersamaan dan dukungan yang sering hadir dalam bentuk sederhana, tapi sangat berarti.
9. Sahabat sekaligus keluarga bagi penulis yaitu Ainun, Mayang, Nanda, Nurul, Rachel, dan Zuanita yang selalu berjalan bersama hingga akhir perjalanan ini. Terima kasih atas segala dukungan, kebersamaan, dan doa yang tak ternilai.
10. Sahabat baik penulis, Vira Nurmalia yang selalu bersedia menjadi pendengar yang baik. Terima kasih karena sudah memberikan nasehat dan dukungan dalam perjalanan penulis.
11. Teman-teman perjuangan “ADS21 *Research*” yang telah memberikan bantuan dan motivasi. Terima kasih atas kerja sama dan semangat yang tak ternilai selama proses ini.
12. Anisah Isti dan Riska, terima kasih sudah saling membantu dalam proses penyusunan karya ini.
13. Kak Fendi Setiawan, M.Si. dan Kak Rosyidatul Lutfiah, M.Si., yang telah memberikan saran, bimbingan, serta dukungan selama penulis melakukan penelitian.
14. Kakak-kakak peneliti di UPA Laboratorium Terpadu Universitas Lampung yang telah mengajarkan saya banyak hal di laboratorium khususnya tentang penelitian.
15. Rekan-rekan pimpinan HIMAKI periode kepengurusan 2023, terima kasih atas setiap kolaborasi, diskusi, dan tawa yang turut mewarnai tahun-tahun berproses penulis di kampus.

16. Kepada teman-teman seperjuangan kimia angkatan 2021, terima kasih atas dukungan, kebersamaan, dan semangat yang saling menguatkan dari awal hingga akhir.
17. Untuk diri penulis, Fera Agistarika. Terima kasih telah bertahan sejauh ini, bahkan saat pikiran penuh keraguan. Terima kasih sudah memilih untuk tetap bangun setiap pagi, menyelesaikan satu demi satu hal yang terlihat kecil tapi penuh perjuangan. Perjalanan ini tidak selalu mudah tapi kamu sudah berhasil untuk tetap melangkah.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, saran dan masukan yang membangun sangat penulis harapkan. Semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca. Aamiin.

Bandar Lampung, 24 Juni 2025

Penulis

Fera Agistarika

## DAFTAR ISI

|                                                                                                         | Halaman |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| DAFTAR ISI.....                                                                                         | xv      |
| DAFTAR TABEL .....                                                                                      | x       |
| DAFTAR GAMBAR.....                                                                                      | xi      |
| I. PENDAHULUAN .....                                                                                    | 1       |
| 1.1 Latar Belakang .....                                                                                | 1       |
| 1.2 Tujuan Penelitian .....                                                                             | 3       |
| 1.3 Manfaat Penelitian .....                                                                            | 3       |
| II. TINJAUAN PUSTAKA.....                                                                               | 5       |
| 2.1 <i>Actinomycetes</i> .....                                                                          | 5       |
| 2.2 Aklimatisasi <i>Actinomycetes</i> .....                                                             | 5       |
| 2.3 Identifikasi Morfologi <i>Actinomycetes</i> .....                                                   | 6       |
| 2.4 <i>Potensi Actinomycetes</i> Sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif.....                                | 7       |
| 2.5 Mekanisme Antibakteri.....                                                                          | 9       |
| 2.6 <i>One Strain Many Compounds</i> (OSMAC) .....                                                      | 10      |
| 2.7 Limbah Serabut Kelapa Sawit.....                                                                    | 11      |
| 2.8 <i>Solid State Fermentation (SSF)</i> .....                                                         | 12      |
| 2.9 Kultivasi Secara Monokultur .....                                                                   | 13      |
| 2.10 Ko-Kultivasi.....                                                                                  | 13      |
| 2.11 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder.....                                                          | 14      |
| 2.12 Profil Senyawa Bioaktif <i>Actinomycetes</i> 19C38A1 pada Media Limbah Kulit Udang .....           | 14      |
| 2.13 Metode Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder .....                                                  | 16      |
| 2.13.1 Pemisahan Secara Partisi.....                                                                    | 16      |
| 2.13.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....                                                             | 16      |
| 2.14 <i>Multidrug Resistance (MDR)</i> .....                                                            | 18      |
| 2.15 Bakteri Patogen Resisten.....                                                                      | 20      |
| 2.15.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                               | 20      |
| 2.15.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                                                              | 21      |
| 2.16 Skrining Aktivitas Antibakteri secara Mikrodilusi .....                                            | 22      |
| 2.17 Karakterisasi <i>Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry (LC-MS/MS)</i> ..... | 23      |

|                                                                                                                                                  |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>III. METODE PENELITIAN.....</b>                                                                                                               | <b>26</b> |
| 3.1 Waktu dan Tempat .....                                                                                                                       | 26        |
| 3.2 Alat dan Bahan.....                                                                                                                          | 26        |
| 3.3 Prosedur Penelitian.....                                                                                                                     | 27        |
| 3.3.1 Biomaterial.....                                                                                                                           | 27        |
| 3.3.2 Identifikasi Morfologi <i>Actinomycetes</i> .....                                                                                          | 29        |
| 3.3.3 Kultivasi dan Ko-Kultivasi .....                                                                                                           | 29        |
| 3.3.4 Ekstraksi dan Partisi .....                                                                                                                | 30        |
| 3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....                                                                                                       | 30        |
| 3.3.6 Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>P. aeruginosa</i><br>secara <i>Resazurin Microdilution Assay</i> .....     | 31        |
| 3.3.7 Karakterisasi <i>Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS) .....                                          | 31        |
| 3.4 Diagram Alir .....                                                                                                                           | 32        |
| <b>IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>                                                                                                             | <b>33</b> |
| 4.1 Isolat <i>Actinomycetes</i> .....                                                                                                            | 33        |
| 4.2 Hasil Kultur Isolat <i>Actinomycetes</i> 19C38A1 Pada Media Limbah<br>Serabut Kelapa Sawit Secara <i>Solid State Fermentation</i> (SSF)..... | 34        |
| 4.3 Metabolit Sekunder Hasil Ekstraksi Dan Partisi.....                                                                                          | 37        |
| 4.4 Hasil Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....                                                                                           | 38        |
| 4.5 Aktivitas Antibakteri.....                                                                                                                   | 43        |
| 4.6 Karakteristik Senyawa Bioaktif Hasil <i>Liquid Chromatography-Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i> (LC-MS/MS) .....                       | 46        |
| <b>V. KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>                                                                                                              | <b>53</b> |
| 5.1 Simpulan .....                                                                                                                               | 53        |
| 5.2 Saran.....                                                                                                                                   | 53        |
| <b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>                                                                                                                       | <b>55</b> |
| <b>LAMPIRAN.....</b>                                                                                                                             | <b>64</b> |

## DAFTAR TABEL

| Tabel                                                               | Halaman |
|---------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Senyawa bioaktif isolat <i>actinomycetes</i> .....               | 8       |
| 2. Berat ekstrak kasar isolat <i>actinomycetes</i> 19C38A1 .....    | 37      |
| 3. Nilai Rf Kromatografi Lapis Tipis (KLT) fraksi DCM .....         | 41      |
| 4. Nilai Rf Kromatografi Lapis Tipis (KLT) fraksi air .....         | 42      |
| 5. Profil senyawa bioaktif pada fraksi DCM dengan kode Fpa38D ..... | 48      |

## DAFTAR GAMBAR

| Gambar                                                                                                                                                                                                                                                                                             | Halaman |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|
| 1. Karakteristik morfologi <i>actinomycetes</i> . ....                                                                                                                                                                                                                                             | 7       |
| 2. Ilustrasi penghambatan sistem <i>quorum sensing</i> bakteri.....                                                                                                                                                                                                                                | 10      |
| 3. Serat mesokarp kelapa sawit. ....                                                                                                                                                                                                                                                               | 11      |
| 4. Profil senyawa bioaktif <i>actinomycetes</i> 19C38A1 terhadap jamur <i>Fusarium oxysporum</i> . ....                                                                                                                                                                                            | 15      |
| 5. Reaksi identifikasi senyawa dengan reagen Dragendorff. ....                                                                                                                                                                                                                                     | 17      |
| 6. Reaksi identifikasi senyawa dengan reagen ninhidrin. ....                                                                                                                                                                                                                                       | 18      |
| 7. Morfologi mikroskopis <i>Staphylococcus aureus</i> .....                                                                                                                                                                                                                                        | 21      |
| 8. Morfologi mikroskopis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....                                                                                                                                                                                                                                       | 22      |
| 9. Reaksi reduksi resazurin menjadi resorufin oleh sel hidup.....                                                                                                                                                                                                                                  | 23      |
| 10. Spektrum ESI TOF MS/MS dari fraksi C38BK2FA, $[M + H]^+ = m/z$ 365,2344 .....                                                                                                                                                                                                                  | 25      |
| 11. Diagram alir penelitian.....                                                                                                                                                                                                                                                                   | 32      |
| 12. Isolat <i>actinomycetes</i> 19C38A1 (a) Identifikasi makroskopis dan (b) Identifikasi mikroskopis .....                                                                                                                                                                                        | 34      |
| 13. Pertumbuhan <i>actinomycetes</i> 19C38A1 pada media standar ISP-2 .....                                                                                                                                                                                                                        | 35      |
| 14. Kultivasi secara monokultur isolat <i>actinomyecetes</i> 19C38A1 (a) Inokulum <i>actinomycetes</i> pada media serabut kelapa sawit cair (b) Media serabut kelapa sawit tanpa penambahan <i>actinomycetes</i> ; dan (c) Media serabut kelapa sawit dengan penambahan <i>actinomycetes</i> ..... | 36      |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 15. Ko-kultivasi isolat actinomycetes 19C38A1 (a) Inokulum <i>actinomycetes</i> pada media serabut kelapa sawit cair; (b) Media serabut kelapa sawit tanpa penambahan <i>actinomycetes</i> ; (c) Media serabut kelapa sawit dengan penambahan <i>actinomycetes</i> dan <i>S. aureus</i> ; dan (d) Media serabut kelapa sawit dengan penambahan <i>actinomycetes</i> dan <i>P. aeruginosa</i> . .... | 37 |
| 16. Kromatografi lapis tipis fraksi DCM (a) Visualisasi sinar UV 254 nm; (b) Visualisasi UV 366 nm; (c) Pewarnaan reagen Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ; (d) Pewarnaan reagen Dragendorff dan (e) Pewarnaan reagen ninhidrin. ....                                                                                                                                                              | 39 |
| 17. Kromatografi lapis tipis fraksi air (a) Visualisasi sinar UV 254 nm; (b) Visualisasi UV 366 nm; (c) Pewarnaan reagen Ce(SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> ; (d) Pewarnaan reagen Dragendorff dan (e) Pewarnaan reagen ninhidrin. ....                                                                                                                                                              | 39 |
| 18. Hasil uji mikrodilusi terhadap bakteri patogen resisten <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 44 |
| 19. Hasil uji mikrodilusi terhadap bakteri patogen resisten <i>Staphylococcus aureus</i> . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | 45 |
| 20. Kromatogram LC-MS/MS sampel FPa38D dengan <i>software</i> Masslynx. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 46 |
| 21. Kromatogram dan spektrum massa pada waktu retensi 12,82 menit. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 50 |
| 22. Struktur senyawa dengan rumus molekul C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 50 |
| 23. Cincin <i>Piperazine-2,5-dione</i> dan substituen gugus <i>isobutyl</i> . ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 51 |

## I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri merupakan salah satu tantangan masyarakat global, terutama dengan meningkatnya kasus resistensi bakteri terhadap berbagai jenis antibiotik atau dikenal sebagai *Multidrug Resistance* (MDR) yang terjadi ketika mikroorganisme menjadi tidak peka terhadap dosis antibiotik yang biasanya efektif membunuhnya. Hal ini mengakibatkan penggunaan antibiotik menjadi kurang efektif, meningkatkan risiko infeksi yang sulit diobati, dan memicu krisis kesehatan global (Chinemerem *et al.*, 2022). Menurut *World Health Organization* (2022) diperkirakan terdapat 4,95 juta kematian yang berhubungan dengan resistensi antibiotik bakteri, dengan 1,27 juta diantaranya secara langsung disebabkan oleh resistensi bakteri terhadap antibiotik pada tahun 2019. Masalah ini lebih sering terjadi pada bakteri Gram positif dan Gram negatif, seperti kelompok Gram negatif yaitu *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Klebsiella pneumoniae*, serta gram positif yaitu *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, dan *Enterococcus faecalis*. Resistensi antibiotik pada bakteri-bakteri ini disebabkan oleh akuisisi plasmid melalui transfer gen resistensi (Bharadwaj *et al.*, 2022).

Berbagai solusi telah dilakukan untuk mengatasi MDR termasuk penggunaan terapi bakteriofag, peptida antimikroba, dan modifikasi senyawa antibiotik yang ada. Namun, pendekatan-pendekatan ini sering kali tidak cukup efektif, terutama dalam menghadapi *strain* bakteri baru yang lebih resisten (Allemailem, 2024). Oleh karena itu, diperlukan eksplorasi lebih lanjut untuk menemukan sumber

antibiotik baru yang dapat melawan MDR, terutama dari sumber-sumber alami. *actinomycetes* laut dapat menjadi alternatif potensial untuk menghasilkan senyawa bioaktif baru yang efektif melawan bakteri resisten (Gnanasekaran *et al.*, 2023). *Actinomycetes* adalah kelompok bakteri Gram-positif yang telah dikenal sebagai produsen utama senyawa bioaktif, seperti antibiotik, antikanker, dan antifungal (Gnanasekaran *et al.*, 2023). Hasil penelitian terbaru melaporkan bahwa *actinomycetes* dengan kode isolat 19C38A1 memiliki aktivitas sebagai fungisida dan mampu menghambat 88% pertumbuhan *Fusarium oxysprum* karena adanya senyawa benzimidazole (Setiawan *et al.*, 2022). *Actinomycetes* memiliki kemampuan untuk menguraikan limbah yang mengandung selulosa sehingga mampu hidup di berbagai jenis media khususnya media berbasis lignoselulosa seperti limbah pertanian, yang membuatnya potensial untuk dimanfaatkan dalam produksi senyawa bioaktif (Widiani, 2023). Kondisi kultur yang umum digunakan sering kali tidak mampu mengungkapkan potensi senyawa bioaktivitas secara maksimal, sehingga hanya menghasilkan metabolit-metabolit yang sudah diketahui dan dihasilkan sebelumnya (Martín-Aragón *et al.*, 2023). Salah satu pendekatan yang menarik dalam produksi senyawa ini adalah metode *One Strain Many Compounds* (OSMAC) dan ko-kultivasi, yang memungkinkan variasi produksi metabolit sekunder hanya dengan mengubah kondisi kultivasi dan menambahkan organisme lain dalam media pertumbuhan.

Limbah serabut kelapa sawit adalah biomassa lignoselulosa dengan komponen selulosa (59,6%) dan lignin (28,5%) yang dapat digunakan sebagai sumber nutrisi bagi mikroorganisme, termasuk *actinomycetes* (Abdullah dkk., 2022).

Penggunaan limbah ini sebagai media dalam metode *Solid State Fermentation* (SSF) memungkinkan *actinomycetes* menghasilkan senyawa bioaktif potensial sebagai agen antibakteri baru. Beberapa penelitian melaporkan bahwa media lignoselulosa meningkatkan produksi metabolit sekunder oleh *actinomycetes*, sehingga menjadikannya pendekatan menarik dalam eksplorasi senyawa baru (Christo *et al.*, 2024; Tahir *et al.*, 2019). Penelitian oleh Fallo (2017), melaporkan bahwa *Streptomyces spp.* aktif melawan patogen dan menghasilkan senyawa seperti beta-laktam, *polyether*, dan azalomycin B yang diidentifikasi sebagai produk dari degradasi lignoselulosa oleh *actinomycetes*. SSF lebih disukai

daripada fermentasi cair karena efisiensi, biaya rendah, ramah lingkungan, dan mendukung pengolahan limbah agroindustri (Yafetto, 2022)

Oleh karena itu, penelitian ini berfokus pada inovasi penggunaan limbah serabut kelapa sawit sebagai media pertumbuhan *actinomycetes* dengan metode SSF untuk memproduksi senyawa bioaktif baru. Penggunaan limbah ini diharapkan dapat meningkatkan nilai tambah dari limbah pertanian serta mendukung prinsip keberlanjutan. Senyawa yang dihasilkan kemudian dievaluasi potensinya dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Fraksi yang menunjukkan aktivitas antibakteri dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik kimianya dan potensi aplikasinya di bidang kesehatan.

## 1.2 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang di atas, maka tujuan dari penelitian ini sebagai berikut.

1. Mengetahui bioaktivitas ekstrak hasil kultur *actinomycetes* 19C38A1 pada media serabut kelapa sawit sebagai agen antibakteri terhadap patogen resisten (*S. aureus* dan *P. aeruginosa*).
2. Mendapatkan identitas senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *actinomycetes* 19C38A1, dengan menggunakan instrumen *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS).

## 1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut.

1. Memberikan informasi baru mengenai isolat *Actinomycetes* penghasil senyawa antibakteri terhadap patogen resisten.
2. Memberikan informasi terkait pemanfaatan limbah agroindustri sebagai media fermentasi.

3. Memberikan informasi terkait senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *actinomycetes* 19C38A1.

## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Actinomycetes*

*Actinomycetes* merupakan mikroorganisme yang tergolong dalam ordo *Actinomycetales* bagian dari filum *Actinobacteria*, salah satu kelompok taksonomi terbesar dalam domain bakteri. Filum tersebut sebagian besar ditemukan pada tanah aerob dan bernafas secara respirasi. Bakteri ini umumnya tidak memiliki flagela, berbentuk batang yang seringkali ramping dan panjang, serta cenderung membelah secara tidak teratur dan membentuk filamen bercabang (Glazer and Nikaido, 2007). Filum ini terdiri dari bakteri Gram-positif dengan kandungan guanin-sitosin (G + C) yang tinggi dalam DNA mereka, yang berkisar dari 51% pada beberapa *corynebacteria* hingga lebih dari 70% pada *Streptomyces* dan *Frankia* (Simeis dan Serra, 2021). Beberapa kelompok penting dari *Actinomycetes* meliputi *Streptomyces*, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Actinomadura*, *Rhodococcus*, dan *Actinomycetales* (Patel et al., 2021).

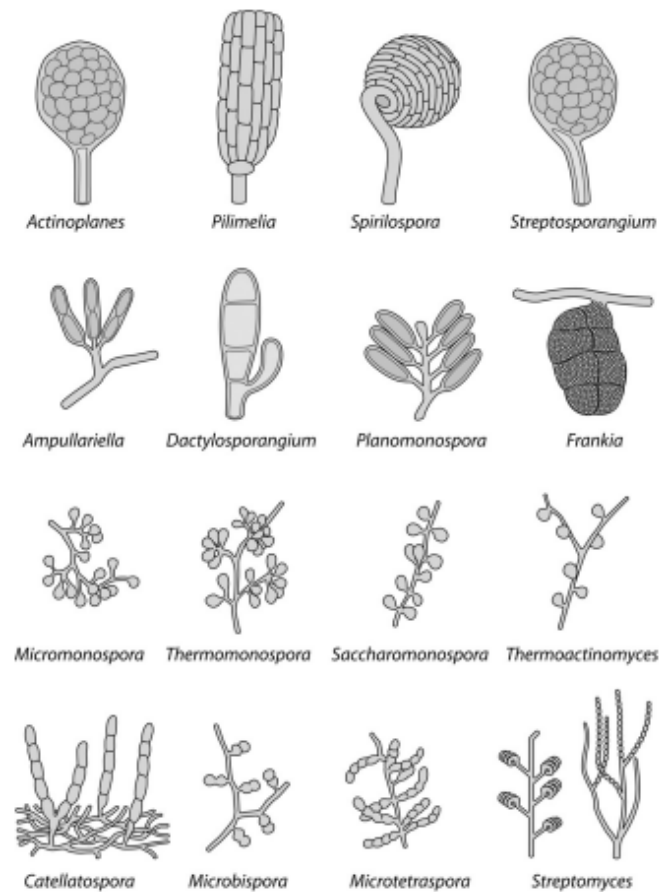
### 2.2 Aklimatisasi *Actinomycetes*

Aklimatisasi adalah proses yang melibatkan penyesuaian bertahap dalam mikroorganisme sebagai respons terhadap perubahan lingkungan. Penyesuaian ini dapat berupa perubahan fisiologis, biokimia, bahkan genetik, yang memungkinkan mikroorganisme untuk beradaptasi dan bertahan hidup di lingkungan baru. Melalui proses ini, kemampuan dan ketahanan mikroorganisme meningkat, sehingga mereka lebih mampu menghadapi kondisi yang sebelumnya dianggap stres atau sulit (Yang et al., 2021). Penelitian oleh Tan et al. (2022)

menyoroti bahwa proses ini dapat meningkatkan kemampuan mikroorganisme untuk bertahan dalam lingkungan yang penuh tekanan, seperti paparan suhu tinggi, tekanan osmotik, atau kehadiran zat toksik. Mekanisme aklimatisasi melibatkan modifikasi epigenetik, perubahan struktur kromatin, dan produksi protein pelindung jangka panjang yang membantu mikroorganisme mempertahankan fungsi fisiologisnya. Hal ini menekankan pentingnya mekanisme adaptasi untuk meningkatkan efisiensi mikroorganisme dalam aplikasi industri, seperti produksi bioetanol, pengelolaan limbah agroindustri, dan sintesis metabolit sekunder yang bernilai tinggi.

### 2.3 Identifikasi Morfologi *Actinomycetes*

*Actinomycetes* memiliki variasi morfologi paling kompleks di antara bakteri Gram-positif, namun struktur selnya prokariotik dan sangat berbeda dari jamur. Struktur sel hifa *actinomycetes* serupa dengan bakteri dengan sitoplasma mengandung DNA genom, ribosom, dan berbagai inklusi seperti cadangan polifosfat, lipid, atau polisakarida. *Actinomycetes* klasik dikenal dengan miselium radial yang berkembang baik. Berdasarkan perbedaan morfologis dan fungsionalnya, miselium ini dapat dibedakan menjadi miselium substrat dan miselium aerial. Beberapa *actinomycetes* juga dapat membentuk struktur kompleks seperti spora, rantai spora, sporangia, dan sporangiospora. Karakteristik penting dalam klasifikasi aktinobakteri meliputi pola pertumbuhan dan fragmentasi miselium substrat, posisi dan jumlah spora, struktur permukaan spora, bentuk sporangia, serta ada tidaknya flagela pada sporangiospore (Li *et al.*, 2016). Karakteristik spora *actinomycetes* dapat dilihat pada Gambar 1.



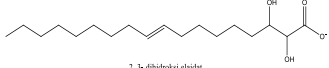
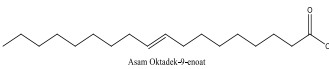
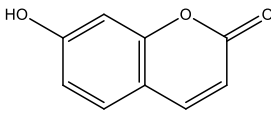
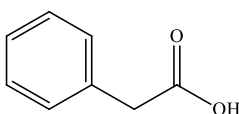
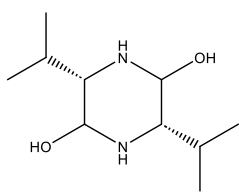
**Gambar 1.** Karakteristik morfologi *actinomycetes* (Barka *et al.*, 2016).

## 2.4 *Potensi Actinomycetes* Sebagai Penghasil Senyawa Bioaktif

*Actinomycetes* terkenal dengan kemampuannya menghasilkan berbagai senyawa bioaktif, termasuk antibiotik, antitumor, dan agen anti-inflamasi, terutama dari genus *Streptomyces* seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa genus ini merupakan produsen utama antibiotik yang telah ditemukan yaitu 75% antibiotik yang dikenal berasal dari genus ini, sedangkan sisanya dihasilkan oleh spesies non-*Streptomyces*. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh *actinomycetes* sering kali diproduksi dalam jumlah kecil pada fase transisi perkembangan konidia, terutama ketika pertumbuhan miselium vegetatif melambat akibat kehabisan nutrisi. Metabolit-metabolit ini sering kali dihasilkan

melalui biosintesis poliketida atau peptida non-ribosom yang dikendalikan oleh kluster gen (Ngamcharungchit *et al.*, 2023; Xiong *et al.*, 2023).

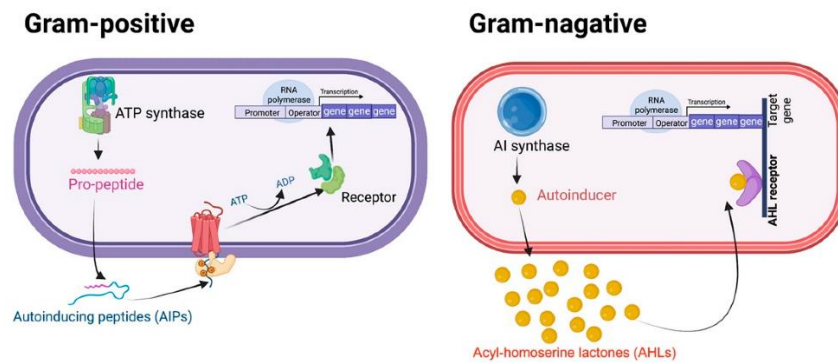
**Tabel 1.** Senyawa bioaktif isolat *actinomycetes*

| Sumber                                                                                                                                    | Senyawa                                             | Struktur Senyawa                                                                                                                                                                                                                | Aktivitas                                                                                                                                                                                   | Referensi                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <i>Streptomyces</i> sp. SUI (MT584797),<br><i>Streptomyces</i> sp. SW72IV (MT584818)<br>dan<br><i>Streptomyces</i> sp. SW72VII (MT584816) | Asam oktadek-9-enoat<br><br>2, 3-dihidroksi elaidat | <br>2, 3-dihidroksi elaidat<br><br><br>Asam Oktadek-9-enoat | Aktivitas antimikroba terhadap <i>Bacillus</i> sp. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9077, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 700699, <i>Candida albicans</i> dan <i>Aspergillus flavus</i> | (Adeyemo <i>et al.</i> , 2021) |
| <i>Actinomyces</i> sp. AW6                                                                                                                | Umbelliferone                                       | <br>Umbelliferone                                                                                                                            | Memiliki aktivitas antibakteri yang rendah terhadap <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i>                                                                                                     | (Agour <i>et al.</i> , 2022)   |
| <i>Streptomyces griseorubens</i> dan<br><i>Streptomyces rochei</i>                                                                        | benzeneacetic acid                                  | <br>benzeneacetic acid                                                                                                                       | Aktivitas antibakteri terhadap <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. enteritidis</i> , and <i>B. subtilis</i> .                                                                                      | (Atallah <i>et al.</i> , 2023) |
| <i>Nocardiopsis</i> sp.                                                                                                                   | 3,6-diisopropypiperazine-2,5-diol                   |                                                                                                                                              | Antibakteri terhadap Gram negatif                                                                                                                                                           | (Song <i>et al.</i> , 2021)    |

## 2.5 Mekanisme Antibakteri

Mekanisme paling umum dalam penghambatan bakteri adalah penghambatan sintesis dinding sel. Banyak antibiotik, seperti golongan  $\beta$ -laktam, bekerja dengan menargetkan enzim transpeptidase, yang terlibat dalam pembentukan peptidoglikan pada dinding sel bakteri. Dengan menghambat aktivitas enzim ini, dinding sel tidak dapat terbentuk dengan sempurna, sehingga bakteri menjadi rentan terhadap tekanan osmotik dan mengalami lisis. Mekanisme ini tidak hanya efektif terhadap bakteri Gram positif, tetapi juga dapat berdampak pada bakteri Gram negatif, meskipun hambatan membran luar pada Gram negatif sering kali mengurangi efektivitasnya (Mora *and* Christopher, 2021). Selain itu, beberapa senyawa antibakteri bekerja dengan merusak integritas membran sel. Senyawa ini umumnya bersifat hidrofobik dan mampu berinteraksi langsung dengan lipid bilayer membran, menyebabkan disorganisasi membran, kebocoran ion, dan gangguan keseimbangan osmotik. Efek ini mengganggu stabilitas struktural sel bakteri dan menyebabkan kematian sel. Mekanisme ini dinilai efektif terhadap berbagai jenis bakteri, termasuk Gram negatif, yang memiliki lapisan membran ganda yang kompleks (Bortolotti *et al.*, 2023).

Mekanisme lain yang menarik perhatian dalam terapi antibakteri modern adalah penghambatan sistem quorum sensing (Gambar 2). Sistem ini merupakan mekanisme komunikasi antar sel bakteri yang mengatur ekspresi gen virulensi, pembentukan biofilm, serta resistensi terhadap stres lingkungan. Molekul-molekul kecil seperti turunan *diketopiperazine* (DKP) diketahui dapat mengganggu proses ini dengan bertindak sebagai analog sinyal atau mengikat reseptor pengindera sinyal (LuxR homolog), sehingga menghambat ekspresi gen yang berkaitan dengan virulensi dan biofilm. Aktivitas penghambatan ini telah dilaporkan relevan pada bakteri Gram negatif (Kapadia *et al.*, 2022).



**Gambar 2.** Ilustrasi penghambatan sistem quorum sensing bakteri (Santajit *et al.*, 2022)

Salah satu bakteri dengan sistem ini adalah *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri ini memiliki tiga sistem quorum sensing utama, yaitu Las, Rhl, dan PQS. Ketiga sistem ini bekerja secara bertahap dan saling memengaruhi. Sistem ini mengatur produksi berbagai senyawa penting seperti elastase, yaitu enzim yang merusak jaringan inang, rhamnolipid yang membantu pembentukan biofilm sekaligus melemahkan sistem imun, dan siderofor, senyawa yang berfungsi mengambil zat besi dari tubuh inang, yang sangat penting bagi pertumbuhan bakteri. Sementara itu, pada *Staphylococcus aureus*, sistem quorum sensing utamanya dikenal sebagai agr (*accessory gene regulator*). Sistem ini mengatur ekspresi berbagai protein virulen, seperti hemolisin, yang dapat menghancurkan sel darah merah, serta enzim-enzim lain yang merusak jaringan tubuh dan membantu bakteri menghindari deteksi sistem kekebalan tubuh. Sistem agr juga berperan dalam transisi antara fase pertumbuhan diam ke fase infeksi aktif, sehingga *S. aureus* menjadi lebih agresif dalam menyerang jaringan inang (Santajit *et al.*, 2022).

## 2.6 One Strain Many Compounds (OSMAC)

Pendekatan *One Strain Many Compounds* (OSMAC) merupakan salah satu strategi yang digunakan untuk meningkatkan produksi senyawa bioaktif dari mikroorganisme dengan memodifikasi kondisi pertumbuhan, seperti perubahan media kultur, suhu, pH, serta penambahan prekursor atau inhibitor tertentu

sehingga mikroorganisme dapat menghasilkan berbagai metabolit sekunder yang berbeda. Hal ini dilakukan untuk mengeksplorasi potensi metabolit tersembunyi yang tidak terdeteksi dalam kondisi kultur standar. Penelitian menunjukkan bahwa pendekatan OSMAC mampu meningkatkan jumlah dan variasi senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh aktinomiset termofilik (Zahroh dkk., 2022).

## 2.7 Limbah Serabut Kelapa Sawit

Sekitar 10% dari pohon kelapa sawit dihasilkan sebagai minyak, sementara sisanya yakni 90%, berupa biomassa seperti tandan buah kosong, serat, bungkil, cangkang, pelepah, batang, daun, akar, serta limbah dari pabrik kelapa sawit (Alexandri *et al.*, 2019). Serat adalah limbah dari perasan buah sawit berbentuk serabut. Serat berasal dari mesokarp buah sawit yang telah diperas menggunakan *screw press*. Proses pemerasan ini merupakan bagian dari pengolahan kelapa sawit di Pabrik Kelapa Sawit (PKS). Serabut sawit berukuran pendek, sesuai dengan ukuran mesokarp buah sawit. Serat mesokarp sawit seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3 terdiri atas beberapa senyawa, dengan kandungan selulosa sebesar 41,92%, lignin sebanyak 21,71%, dan hemiselulosa 11,36% (Rahardja dkk., 2022).



**Gambar 3.** Serat mesokarp kelapa sawit (Budi dkk., 2020).

## 2.8 *Solid State Fermentation (SSF)*

*Solid State Fermentation (SSF)* merupakan proses di mana mikroorganisme berkembang dalam lingkungan minim atau hampir tidak ada air. Mikroorganisme yang diinokulasikan akan mengalami pertumbuhan di dalam substrat dengan menggunakan nutrisi yang ada (Christo *et al.*, 2024). *Solid State Fermentation (SSF)* dianggap lebih menguntungkan karena memiliki keunggulan meliputi sifatnya yang lebih ramah lingkungan, tingkat produktivitas fermentasi yang lebih tinggi, konsentrasi produk serta stabilitas yang lebih baik, pengurangan penekanan katabolik, kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh pada substrat yang tidak larut, serta kebutuhan akan tingkat sterilitas yang lebih rendah karena aktivitas air yang digunakan sangat minim (Maftukhah, 2020).

Berbagai mikroorganisme sering dimanfaatkan dalam fermentasi padat, terutama jamur berfilamen dari genera seperti *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Rhizopus*, dan *Trichoderma*. Ragi seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, dan *Candida sp.* serta beberapa spesies *actinobacteria*, termasuk *Streptomyces thermonitrificans* dan *Streptomyces chattanoogensis*, serta golongan bakteri *Bacillus megaterium*, *Bacillus mycoides*, serta *Lactobacillus spp.* seperti *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii*, dan *L. coryniformis* (Yafetto, 2022). *Actinomycetes* seperti *Streptomyces sp.*, diketahui cocok untuk proses SSF karena kemampuannya dalam mengkolonisasi residu padat secara efektif, memproduksi berbagai enzim pengurai, serta memiliki ketahanan yang tinggi terhadap kondisi ekstrem (Soccol *et al.*, 2017).

Metode SSF dipengaruhi oleh beberapa faktor penting seperti pemilihan substrat dan mikroorganisme yang tepat, perlakuan awal substrat, ukuran partikel yang memengaruhi ruang antar-partikel dan luas permukaan, kadar air serta aktivitas air dari substrat, kelembaban, jenis dan jumlah inokulum, pengendalian suhu selama fermentasi, serta pengelolaan panas metabolik. Selain itu, durasi inkubasi, menjaga keseragaman lingkungan dalam sistem SSF, dan kondisi atmosfer seperti konsumsi oksigen dan pelepasan karbon (Maftukhah, 2020)

## 2.9 Kultivasi Secara Monokultur

Kultivasi monokultur merupakan teknik penumbuhan mikroorganisme dalam kondisi steril yang hanya mengandung satu jenis mikroorganisme tanpa adanya kontaminasi dari organisme lain. Teknik ini sangat penting dalam penelitian mikroorganisme seperti *actinomyces*, terutama untuk mengidentifikasi kemampuan mikroba menghasilkan senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai antibakteri. Melalui kultivasi monokultur, isolasi mikroba dapat dilakukan dengan lebih terfokus sehingga karakteristik spesifik dari mikroba yang diteliti dapat dipelajari dengan lebih mendalam, termasuk dalam pengembangan agen antibakteri yang efektif. Kultivasi dalam kondisi monokultur sangat penting untuk memastikan bahwa metabolit yang dihasilkan murni berasal dari satu jenis mikroorganisme, sehingga analisis bioaktivitas senyawa tersebut lebih akurat. Selain itu, dengan mempertahankan kondisinya, peneliti dapat meminimalkan variabel lain yang mungkin mempengaruhi hasil uji bioaktivitas, seperti kontaminasi dari mikroorganisme lain yang dapat menghasilkan metabolit yang berbeda (Pokorny *et al.*, 2022).

## 2.10 Ko-Kultivasi

Ko-kultivasi adalah sistem biologis yang melibatkan pertumbuhan dua atau lebih organisme berbeda yang hidup berdampingan dengan adanya kontak tertentu di antara mereka, baik dalam media alami maupun buatan. Sistem ini secara alami dapat ditemukan di berbagai lingkungan seperti usus mamalia, tanah, air, makanan, dan limbah. Asosiasi antarorganisme dalam ko-kultivasi bisa bersifat simbiosis, seperti mutualisme atau komensalisme, di mana terjadi pelepasan molekul sebagai nutrisi. Interaksi ini juga bisa bersifat parasitisme atau merusak, yang ditandai dengan pelepasan zat seperti racun, antibiotik, atau alkaloid yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain (Rosero-Chasoy *et al.*, 2021). Ko-kultivasi memiliki beberapa keuntungan dibandingkan dengan metode axenic. Menumbuhkan beberapa mikroorganisme secara bersamaan dapat mengurangi

biaya produksi serta ko-kultivasi lebih tahan terhadap kontaminasi (Sanita *and* Lucas, 2022).

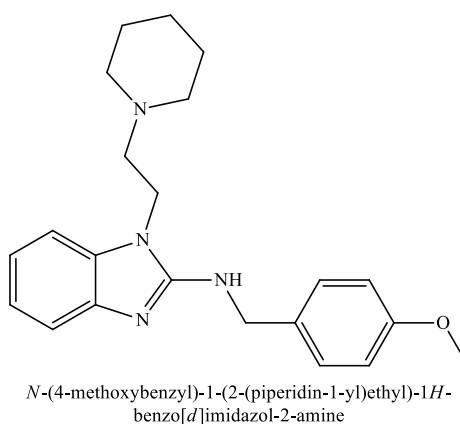
### 2.11 Ekstraksi Senyawa Metabolit Sekunder

Ekstraksi adalah proses pemisahan komponen kimia dari campuran menggunakan pelarut yang sesuai. Tujuan utama ekstraksi adalah untuk mengisolasi metabolit sekunder atau komponen senyawa kimia yang ada dalam sampel. Beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan proses ekstraksi meliputi metode yang digunakan, jenis pelarut, ukuran partikel sampel, dan durasi ekstraksi. Prinsip dasar dari metode ini adalah pemisahan komponen dalam bahan dengan menggunakan pelarut yang sesuai (Asworo *and* Widwastuti, 2023). Pemilihan pelarut perlu diperhatikan dalam proses ekstraksi, karena pelarut berperan besar dalam menentukan kualitas, jumlah, dan selektivitas senyawa yang diekstraksi. Beberapa pelarut yang sering digunakan dalam ekstraksi produk alami meliputi pelarut polar seperti air, metanol, etanol, dan aseton, serta pelarut non-polar seperti, heksana, kloroform, dan etil asetat. Metode yang paling sering diterapkan untuk ekstraksi produk alami adalah ekstraksi padat-cair, yaitu proses yang melibatkan pengambilan komponen terlarut dari padatan dengan bantuan pelarut cair. Beragam teknik ekstraksi padat-cair telah digunakan untuk memurnikan senyawa bioaktif dari tumbuhan dan mikroorganisme (Popova *and* Bankova, 2023).

### 2.12 Profil Senyawa Bioaktif *Actinomyces* 19C38A1 pada Media Limbah Kulit Udang

*Actinomyces* laut telah dikenal sebagai penghasil metabolit sekunder yang memiliki aktivitas bioaktif, termasuk aktivitas antimikroba dan antijamur. Salah satu isolat yang menonjol, yaitu *Kocuria palustris* 19C38A1 menunjukkan potensi besar dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen tanaman seperti *Fusarium oxysporum*. Pada penelitian sebelumnya, media berbasis limbah kulit udang yang

mengandung kitin digunakan sebagai sumber karbon utama untuk pertumbuhan *actinomycetes*. Limbah kulit udang ini diolah menjadi kitin koloid melalui proses demineralisasi dan deproteinisasi, kemudian digunakan sebagai media fermentasi untuk memproduksi metabolit bioaktif. Penelitian yang dilakukan pada *K. palustris* 19C38A1 menunjukkan bahwa fraksi aktif C38BK2FA yang dihasilkan dari ekstraksi kultur memiliki aktivitas penghambatan sebesar 88% terhadap *Fusarium oxysporum* pada konsentrasi 1 mg/mL. Aktivitas ini dikaitkan dengan adanya senyawa kelompok benzimidazol seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4, yang telah dikenal memiliki mekanisme kerja dengan menghambat polimerisasi tubulin, sehingga mengganggu pembelahan sel jamur dan menyebabkan kematian sel. Analisis struktur menggunakan LC-MS/MS mengidentifikasi beberapa senyawa nitrogen, termasuk turunan benzimidazol dan triazol, yang berperan dalam aktivitas antijamur tersebut. Senyawa-senyawa ini menunjukkan sifat amfoterik yang memungkinkan interaksi dengan target terapeutik, menjadikannya agen antijamur spektrum luas. Penggunaan limbah kulit udang sebagai media fermentasi untuk *K. palustris* 19C38A1 tidak hanya memberikan alternatif ramah lingkungan untuk pengelolaan limbah, tetapi juga meningkatkan produksi senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai biofungisida (Setiawan *et al.*, 2022).



**Gambar 4.** Profil senyawa bioaktif *actinomycetes* 19C38A1 terhadap jamur *Fusarium oxysporum* (Setiawan *et al.*, 2022).

## **2.13 Metode Pemisahan Senyawa Metabolit Sekunder**

### **2.13.1 Pemisahan Secara Partisi**

Partisi adalah metode pemisahan komponen senyawa dalam sampel berdasarkan perbedaan kepolaran antara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Proses ini memanfaatkan prinsip bahwa senyawa dengan kepolaran yang berbeda akan terdistribusi ke dalam fase pelarut yang sesuai. Tujuannya adalah untuk memisahkan komponen-komponen kimiawi yang ada dalam sampel, agar lebih mudah diidentifikasi. Metode partisi umumnya menggunakan jenis pelarut yang berbeda agar senyawa aktif yang memiliki kepolaran berbeda akan terekstrak ke dalam pelarut yang sesuai. Setelah dikocok, campuran akan membentuk dua lapisan, yaitu lapisan pelarut dan filtrat atau biasa disebut dengan lapisan atas dan lapisan bawah sesuai dengan densitas atau massa jenis dari pelarut yang digunakan, di mana masing-masing fase akan mengandung senyawa sesuai dengan tingkat kepolarannya. Proses ini diulang hingga salah satu fase pelarut jernih, menandakan bahwa senyawa tertentu telah terpisah dari yang lain (Tuloli *et al.*, 2023).

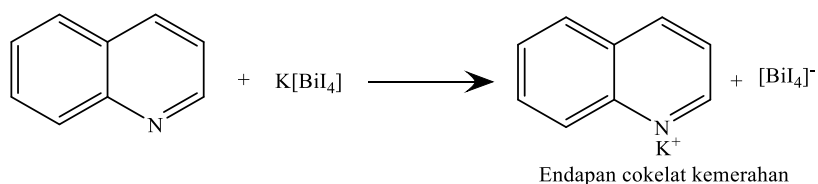
### **2.13.2 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode pemisahan komponen-komponen berdasarkan perbedaan polaritas antara sampel dan pelarut yang digunakan sebagai fase gerak. KLT digunakan untuk mengetahui jumlah komponen dalam suatu campuran, mengidentifikasi senyawa, menentukan kemurnian, mengidentifikasi senyawa serta memantau perkembangan reaksi (Putri dkk., 2024). Metode kromatografi ini menggunakan prinsip adsorpsi padat-cair untuk memisahkan campuran yang sukar menguap. Kromatografi ini menggunakan fase bergerak berupa cairan, sedangkan fase diam terdiri dari pelat kaca yang dilapisi dengan gel silika. Pemisahan senyawa terjadi karena perbedaan polaritas partikel terhadap kedua fase tersebut, baik fase bergerak maupun fase diam (Tiwari *and*

Talreja, 2022). Prinsip kerjanya, sampel campuran dioleskan ke pelat KLT, kemudian pelat tersebut ditempatkan dalam ruang kromatografi yang berisi fase gerak yang sesuai. Analit akan bermigrasi seiring perkembangan fase gerak. Setelah itu, pelat KLT diamati di bawah sinar  $UV_{254}$  untuk mendeteksi senyawa yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan  $UV_{366}$  untuk mendeteksi senyawa yang dapat berflorosensi.

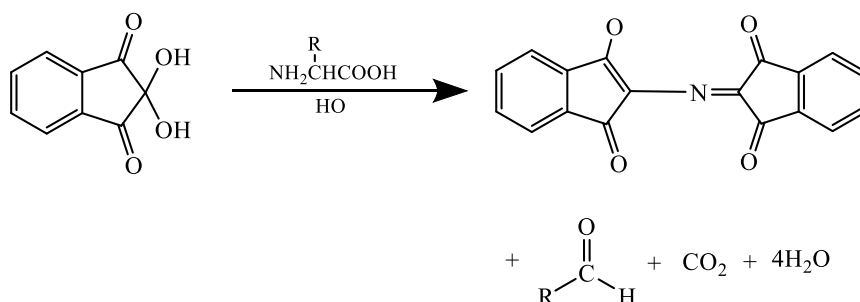
Pada KLT, identifikasi senyawa juga dilakukan dengan penambahan reagen spesifik. Reagen cerium (IV) sulfat bekerja dengan prinsip oksidasi-reduksi, di mana senyawa-senyawa yang mudah teroksidasi seperti alkohol, aldehida, keton, dan senyawa aromatik akan bereaksi dengan cerium (IV) sulfat, menghasilkan perubahan warna yang khas seperti kuning, coklat, atau biru tergantung jenis senyawanya. Reagen ini sering digunakan dalam analisis senyawa fenolik dan terpenoid, yang merupakan kelompok metabolit sekunder umum dari mikroorganisme dan tumbuhan. Keberadaan warna pada noda menunjukkan kemungkinan adanya senyawa yang memiliki gugus fungsi mudah teroksidasi.

Reagen Dragendorff merupakan salah satu reagen spesifik yang digunakan untuk mendeteksi senyawa alkaloid. Reagen ini mengandung bismut nitrat dan kalium iodida yang akan bereaksi dengan gugus nitrogen basa dari alkaloid, membentuk kompleks yang menghasilkan noda berwarna oranye, coklat, atau merah bata. Karena alkaloid banyak ditemukan dalam produk metabolit sekunder actinomycetes dan memiliki aktivitas biologis yang tinggi, penggunaan reagen ini sangat berguna untuk memprediksi keberadaan senyawa bioaktif dari golongan tersebut.



**Gambar 5.** Reaksi identifikasi senyawa dengan reagen Dragendorff.

Reagen ninhidrin bekerja dengan cara bereaksi dengan gugus amina primer atau sekunder, terutama yang terdapat pada asam amino dan peptida. Ketika terjadi reaksi, akan terbentuk senyawa berwarna ungu kebiruan yang dikenal sebagai kompleks Ruhemann. Ninhidrin sangat sensitif dalam mendeteksi senyawa nitrogen non-alkaloid seperti peptida siklik, termasuk diketopiperazin (DKP), yang banyak diproduksi oleh *actinomycetes* laut. Warna ungu yang muncul pada pelat KLT setelah penyemprotan dan pemanasan menunjukkan adanya senyawa peptidik yang berpotensi sebagai antibakteri.



**Gambar 6.** Reaksi identifikasi senyawa dengan reagen ninhidrin.

Posisi analit pada pelat KLT ditunjukkan oleh nilai *Retention factor* ( $R_f$ ) dan pemisahan komponen campuran terjadi karena perbedaan polaritasnya.

Perhitungan nilai  $R_f$  dapat ditentukan sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak tempuh zat terlarut}}{\text{Jarak tempuh pelarut}}$$

Nilai  $R_f$  selalu kurang dari 1 karena pelarut bergerak lebih cepat dibandingkan zat terlarut (Hameed *et al.*, 2023). KLT memiliki sejumlah keunggulan, seperti biaya yang rendah, kecepatan pemisahan yang tinggi, metode yang sederhana, serta tidak memerlukan praperlakuan sampel yang rumit dalam proses deteksi (Zhang *et al.*, 2022).

## 2.14 Multidrug Resistance (MDR)

*Multidrug Resistance* (MDR) merupakan kondisi di mana mikroorganisme menjadi tidak peka terhadap dosis antibiotik yang biasanya efektif membunuhnya.

Hal ini menjadi perhatian serius terkait kemanjuran antibiotik dalam mengobati penyakit infeksi yang disebabkan oleh patogen. Berdasarkan statistik, infeksi yang diakibatkan oleh bakteri MDR terus meningkat signifikan dalam beberapa tahun terakhir. Beberapa bakteri yang termasuk dalam kategori MDR antara lain *Enterobacteriaceae* penghasil ESBL, *Pseudomonas aeruginosa* yang resistan terhadap multi-obat, *Enterococcus* yang resistan terhadap vankomisin (VRE), dan *Staphylococcus aureus* yang resistan terhadap methicillin (MRSA). Strain lain yang juga menjadi ancaman meliputi *Streptococcus* grup B yang resistan terhadap Klindamisin dan *Streptococcus* grup A yang resistan terhadap Eritromisin. Walaupun tidak semua kelompok bakteri menunjukkan resistensi terhadap antibiotik, enam bakteri MDR utama yang dikenal sebagai kelompok ESKAPE telah diidentifikasi. Kelompok ini umumnya mampu menghindari efek antibiotik dan terdiri dari *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan spesies *Enterobacter*. Bakteri-bakteri ini bertanggung jawab atas sebagian besar infeksi nosokomial di seluruh dunia (Allemailem, 2024; Yang *et al.*, 2021).

Strain bakteri memiliki berbagai jenis mekanisme dalam proses resistensi antibiotik seperti proses inaktivasi antibiotik. Inaktivasi antibiotik dapat terjadi melalui proses hidrolisis dan proses redoks. Banyak antibiotik memiliki ikatan kimia seperti amida dan ester yang rentan secara hidrolitik. Beberapa enzim dari bakteri diketahui merusak aktivitas antibiotik. Mekanisme lain juga bisa terjadi termasuk perubahan permeabilitas membran sel, yang membatasi masuknya antibiotik ke dalam sel, serta pengeluaran aktif antibiotik menggunakan pompa *efflux*, yang mengurangi konsentrasi intraseluler antibiotik hingga di bawah tingkat yang efektif. Kombinasi dari berbagai mekanisme resistensi ini sering menyebabkan bakteri menjadi tahan terhadap beberapa agen terapi, sehingga membuat pengobatan infeksi menjadi lebih sulit (Cox and Wright, 2020).

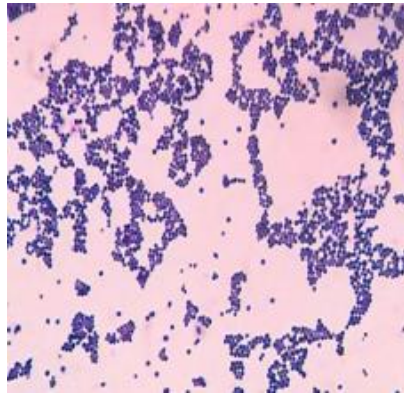
## 2.15 Bakteri Patogen Resisten

### 2.15.1 *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* adalah bakteri berbentuk bulat (kokus) yang bersifat Gram-positif dan katalase positif, termasuk dalam famili *Staphylococcaceae*. Ukurannya berkisar antara 0,5 hingga 1,5  $\mu\text{m}$ , tidak bergerak, tidak membentuk spora, serta bersifat anaerob fakultatif yang sering ditemukan berkelompok. Saat dilakukan pewarnaan Gram, bakteri ini akan berwarna ungu dengan bentuk bulat, sering tersusun dalam kelompok yang menyerupai “gugusan anggur”. Koloninya berwarna keemasan atau kuning yang dihasilkan oleh pigmen karotenoid. Bakteri ini mampu tumbuh pada media dengan kandungan garam hingga 10%, membuatnya tahan terhadap kondisi lingkungan yang sulit, seperti kadar garam tinggi dan tekanan osmotik. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dipengaruhi oleh faktor lingkungan seperti suhu, pH, dan oksigen. Suhu ideal bagi bakteri ini berkisar antara 7 hingga 48 °C, dengan suhu optimum 37 °C. *Staphylococcus aureus* mampu bertahan di suhu pembekuan hingga -20 °C, namun kelangsungan hidupnya menurun pada suhu antara -10 hingga 0 °C. Bakteri ini mudah mati ketika dipanaskan atau dipasteurisasi. Pertumbuhannya terjadi dalam rentang pH 4,0 hingga 10,0, dengan pH optimum berada di antara 6 dan 7. Semua spesies *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh di lingkungan yang mengandung garam empedu. Sebagai bakteri anaerob fakultatif, *Staphylococcus aureus* dapat berkembang baik dalam kondisi dengan atau tanpa oksigen, meskipun pertumbuhannya lebih lambat dalam kondisi anaerobik (Fayisa and Tuli, 2023). Morfologi *Staphylococcus aureus* secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 7. Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Todar, 2008)

|         |                     |
|---------|---------------------|
| Domain  | : <i>Bacteria</i>   |
| Kingdom | : <i>Eubacteria</i> |
| Filum   | : <i>Firmicutes</i> |
| Kelas   | : <i>Bacilli</i>    |
| Ordo    | : <i>Bacillales</i> |

Family : *Micrococcaceae*  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus*

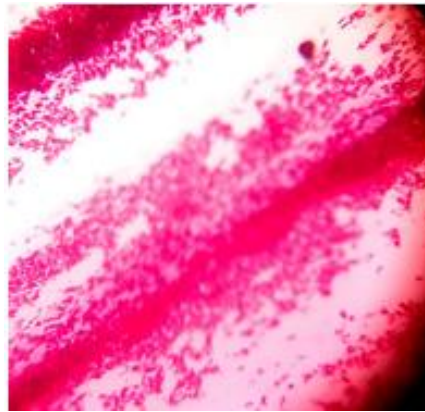


**Gambar 7.** Morfologi mikroskopis *Staphylococcus aureus* (Malelak *et al.*, 2015).

#### 2.15.2 *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri berbentuk batang yang termasuk dalam kelompok Gram-negatif. Bakteri ini bersifat heterotrofik dan motil, dengan ukuran panjang sekitar 1–5  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,5–1,0  $\mu\text{m}$ . *P. aeruginosa* mampu tumbuh melalui respirasi aerobik serta respirasi anaerobik, di mana nitrat berperan sebagai akseptor elektron terminal. Selain itu, bakteri ini dapat tumbuh dalam kondisi anaerobik menggunakan arginin, meskipun kapasitas fermentasinya terbatas dan sering kali menghasilkan pertumbuhan yang sangat lambat atau bahkan tidak terjadi. *P. aeruginosa* memiliki kemampuan memanfaatkan lebih dari 100 jenis molekul organik sebagai sumber karbon dan energi, serta berperan sebagai prototrof yang mampu tumbuh pada media garam minimal dengan satu sumber karbon dan energi. Bakteri ini tumbuh optimal pada suhu 37 °C, namun tetap dapat bertahan hidup pada rentang suhu antara 4–42 °C (Diggle and Whiteley, 2021). Morfologi *Pseudomonas aeruginosa* secara mikroskopis dapat dilihat pada Gambar 8. Klasifikasi *Pseudomonas aeruginosa* adalah sebagai berikut (Siegrist, 2010).

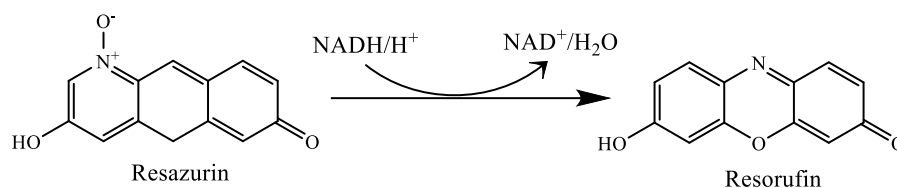
Kingdom : *Bacteria*  
Filum : *Proteobacteria*  
Kelas : *Gamma Proteobacteria*  
Ordo : *Pseudomonadales*  
Family : *Pseudomonadaceae*  
Genus : *Pseudomonas*  
Spesies : *Pseudomonas aeruginosa*



**Gambar 8.** Morfologi mikroskopis *Pseudomonas aeruginosa* (Pratami and Pradika, 2023).

## 2.16 Skrining Aktivitas Antibakteri secara Mikrodilusi

Uji aktivitas antibakteri secara kualitatif dapat dilakukan menggunakan metode *Resazurin Microdilution Assay*, yaitu teknik berbasis *microtiter plate* 96 sumur yang memanfaatkan indikator redoks resazurin untuk mendeteksi pertumbuhan mikroorganisme. Resazurin adalah pewarna non-fluoresen berwarna biru yang akan direduksi menjadi resorufin berwarna merah muda oleh aktivitas metabolik bakteri hidup dengan reaksi yang ditunjukkan pada Gambar 9, sehingga perubahan warna ini digunakan sebagai indikator visual keberadaan atau ketiadaan pertumbuhan bakteri (Li *et al.*, 2024).



**Gambar 9.** Reaksi reduksi resazurin menjadi resorufin oleh sel hidup.

Menurut Coelho *et al.*, (2021), metode ini digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antibakteri isolat *Nocardia spp.* menggunakan pendekatan mikrodilusi dengan resazurin. Hasil uji tidak dihitung dalam bentuk nilai MIC, tetapi diinterpretasikan secara kualitatif berdasarkan perubahan warna indikator. Metode ini dinilai praktis, sensitif, dan efisien untuk digunakan dalam skrining awal aktivitas antibakteri dari senyawa alami atau ekstrak kasar. Pendekatan ini juga diaplikasikan dalam penelitian ini, di mana ekstrak diuji terhadap bakteri menggunakan sistem 96-well, dan perubahan warna resazurin setelah inkubasi diamati untuk menentukan adanya aktivitas antibakteri. Metode ini memudahkan interpretasi hasil, tanpa memerlukan instrumen kompleks maupun perhitungan nilai MIC, sehingga cocok untuk skrining awal senyawa bioaktif.

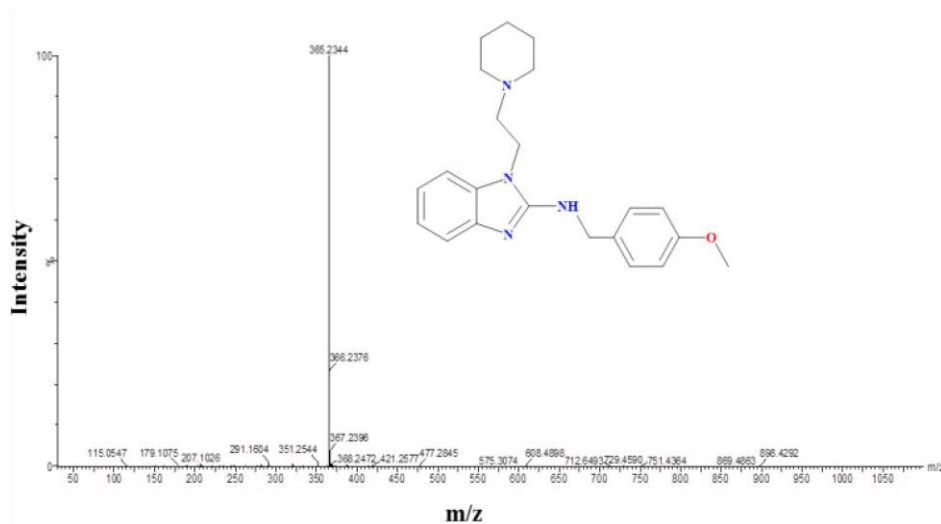
## 2.17 Karakterisasi *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry* (LC-MS/MS)

*Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) adalah teknik analisis yang menggabungkan pemisahan fisik melalui kromatografi cair dengan deteksi spesifik menggunakan spektrometri massa. Pada proses ini, kromatografi cair memisahkan komponen-komponen sampel, dan ion-ion bermuatan yang dihasilkan dideteksi oleh spektrometer massa. Analisis data LC-MS/MS menghasilkan kromatogram berupa puncak-puncak dengan intensitas yang berbeda, yang memungkinkan identifikasi bobot molekul senyawa dalam ekstrak, serta jumlah dan jenis senyawa dalam setiap sampel (Mangurana *et al.*, 2019).

Salah satu kelebihan utama LC-MS/MS adalah selektivitas tinggi. Metode ini dapat mengenali dua sifat fisik analit, yaitu rasio  $m/z$  dari ion induk dan ion

produk. Penggabungan teknik ini dengan kromatografi cair juga meningkatkan spesifisitas, karena analit dapat diidentifikasi dengan tepat berdasarkan waktu retensi. Selain itu, sensitivitas LC-MS/MS menunjukkan fleksibilitas yang tinggi, sehingga dapat digunakan untuk mengembangkan analisis senyawa baru atau biomarker dengan batas deteksi yang lebih rendah dibandingkan dengan metode lain. Kemampuan untuk melakukan analisis multikomponen secara simultan menjadi keunggulan lainnya, karena dapat mengidentifikasi dan mengukur beberapa analit sekaligus, yang mengurangi biaya dalam proses persiapan sampel pada matriks biologis. Persiapan sampel juga dapat disederhanakan dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair atau pengendapan protein, sehingga lebih efisien dibandingkan dengan metode yang memakan waktu dan mahal. LC-MS/MS juga memiliki kekurangan. Ketergantungan pada instrumen yang kompleks dan mahal menjadi salah satu tantangan dalam penerapannya. Selain itu, metode ini memerlukan perawatan yang intensif untuk menjaga kinerjanya. Meskipun tidak memerlukan derivatisasi senyawa polar seperti pada kromatografi gas, proses persiapan yang diperlukan tetap dapat menambah waktu dan biaya (Harmita *et al.*, 2019).

Penelitian oleh Setiawan *et al.*, (2022) pada *Kocuria palustris* 19C38A1 telah mengungkapkan potensi bioaktif yang signifikan terhadap patogen *Fusarium oxysporum*. Fraksi aktif C38BK2FA yang dihasilkan oleh isolat ini menunjukkan inhibisi sebesar 88% pada konsentrasi 1 mg/mL, sebagaimana didukung oleh hasil analisis kromatografi dan spektrum massa yang menghasilkan puncak kromatogram yang dapat dilihat pada Gambar 10. Senyawa aktif yang teridentifikasi dalam fraksi ini termasuk dalam golongan benzimidazol dan triazol, yang berperan penting dalam aktivitas fungisida melalui penghambatan polimerisasi tubulin dan kerusakan struktur hifa serta konidia dari *F. oxysporum*.



**Gambar 10.** Spektrum ESI TOF MS/MS dari fraksi C38BK2FA,  $[M + H]^+ = m/z$  365,2344 (Setiawan *et al.*, 2022).

### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 sampai Februari 2025 di UPA Laboratorium Terpadu Universitas Lampung. Analisis *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) dilakukan di Pusat Laboratorium Forensik (Puslabfor) Badan Reserse Polri Sentul Bogor.

#### 3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas diantaranya gelas kimia, pipet tetes, Erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, cawan petri, vial, *microtube*, batang pengaduk, pinset, gunting, *cover slip*, *cutter*, *loop ose*, oven, pembakar spiritus, *hot plate*, spatula logam, karet gelang, spidol, mikropipet 10-100  $\mu\text{L}$  (DragonLab), *microplate* 96-well, mikropipet 100-1000  $\mu\text{L}$  (DragonLab), *autoclave* Tomy SX-700, neraca analitik Wigen Houser, *rotary evaporator* Buchii/R210, *laminar air flow* (ESCO), inkubator Memmert-Germany/INC-02, mikroskop cahaya Zeiss Axio A1, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan pelat alumunium *silica* gel DC kielsel 60 F<sub>254</sub>, lampu UV Kohler/SN402006, dan *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS).

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian, yaitu limbah serabut kelapa sawit, koloid kitin, agar-agar plain, sampel isolat *actinomycetes* deposit UPT-

LTSIT (19C38A1), *artificial sea water* (ASW) (NaCl 234.7 dan H<sub>2</sub>O 10.0 L), akuades, etil asetat (etOAc), metanol, n-heksana, plat silika gel, alkohol 70%, *Tryptic Soy Broth* (TSB), ISP2 (*yeast* dan *malt extract*), resazurin 0,02%, pereaksi serum (IV) sulfat, pereaksi Dragendorff, pereaksi ninhidrin, pH indikator universal, diklorometana (DCM), plastic wrap, *ciprofloxacin*, DMSO 5%, dan bakteri patogen resisten (*S. aureus* dan *P. aeruginosa*).

### 3.3 Prosedur Penelitian

#### 3.3.1 Biomaterial

##### 3.3.1.1 Persiapan Media Limbah Serabut Kelapa Sawit

Limbah serabut kelapa sawit diperoleh dari pabrik pengolahan kelapa sawit Desa Rejomulyo, Jati Agung, Lampung Selatan, Indonesia (-5.238129,105.294045). Persiapan media kultivasi merujuk pada (Setiawan *et al.*, 2021) yang dimodifikasi. Langkah pertama adalah membersihkannya dari kotoran seperti tanah dan daun dengan cara mencucinya menggunakan air mengalir. Setelah itu, serabut kelapa sawit direndam dalam air laut selama kurang lebih 30 menit. Proses perendaman ini bertujuan untuk menghilangkan kotoran organik yang masih menempel, sekaligus menjaga kandungan mineral dari air laut yang bisa mendukung pertumbuhan *actinomycetes* laut. Setelah selesai direndam, serabut kembali dicuci dengan air laut buatan sampai bersih dari sisa kotoran. Kemudian, serabut tersebut dikeringkan pada suhu 50-60 °C. Setelah kering, 20 g serabut kelapa sawit dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL dan disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15-20 menit untuk memastikan tidak ada mikroorganisme lain yang tumbuh. Serabut yang sudah disterilkan kemudian disimpan di wadah tertutup sampai siap digunakan untuk peremajaan, kultivasi, dan ko-kultivasi *actinomycetes* laut 19C38A1.

### 3.3.1.2 Aklimatisasi dan Peremajaan Isolat *Actinomycetes*

Isolat 19C38A1 diperoleh dari spons perairan Teluk Tomini, Gorontalo, Indonesia (0°25'11.9" N 123°08'31.8" E) pada bulan Agustus 2019 (Setiawan *et al.*, 2022). Peremajaan dilakukan dengan teknik goresan *zigzag* menggunakan jarum ose steril. Media yang digunakan adalah media limbah serabut kelapa sawit yang dilarutkan dalam air laut buatan dengan penambahan media standar berupa ISP-2 guna meniru lingkungan alami dari isolat tersebut. Di ambil satu ose isolat dari stok atau koleksi kemudian digores dengan teknik goresan *zigzag*. Setelah isolat ditanam pada media, cawan petri ditutup rapat menggunakan plastik wrap untuk mencegah kontaminasi, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 4 hingga 7 hari. Selama proses inkubasi, dilakukan pengamatan visual seperti warna, perkembangan miselium aerial, dan miselium substrat.

### 3.3.1.3 Persiapan Bakteri Patogen Resisten (*Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*)

Bakteri patogen resisten yang digunakan dalam penelitian ini merupakan biomaterial uji yang terdiri dari *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Kedua strain bakteri tersebut diketahui memiliki tingkat resistensi terhadap beberapa jenis antibiotik konvensional, sehingga sering digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri senyawa bioaktif baru. Isolat bakteri diperoleh dari deposit Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (UPT LTSIT), Universitas Lampung. Sebelum digunakan dalam pengujian, masing-masing isolat diremajakan terlebih dahulu dalam media TSA dan diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai untuk memastikan pertumbuhan optimal. Biomaterial ini kemudian digunakan sebagai organisme uji dalam skrining aktivitas antibakteri fraksi hasil kultivasi *actinomycetes*.

### 3.3.2 Identifikasi Morfologi *Actinomycetes*

Isolat tunggal hasil aklimatisasi diidentifikasi menggunakan Mikroskop Zeiss Axio Imager. Analisis mikroskopis *actinomycetes* dilakukan dengan metode *coverslip* pada sudut kemiringan 45° ke dalam cawan petri berbeda dengan media agar serabut sawit, kemudian *strain actinomycetes* diambil menggunakan jarum ose steril dan digores pada media dekat *coverslip*. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 7 hari. Setelah di inkubasi ketika *strain* sudah tumbuh dekat *coverslip*, kemudian ditarik dengan hati-hati menggunakan penjepit (pinset) dan diletakkan di atas kaca preparat. Lalu diamati dibawah Mikroskop Zeiss Axio Imager dengan perbesaran 400x (Setiawan *et al.*, 2022).

### 3.3.3 Kultivasi dan Ko-Kultivasi

Isolat yang berhasil diidentifikasi kemudian dikultur. Metode kultivasi didasarkan pada Setiawan *et al.*, (2021) dengan beberapa modifikasi yaitu perubahan media kultivasi. Isolat *actinomycetes* ditumbuhkan dalam media inokulum cair yang mengandung 1% media serabut sawit cair, 0,4% yeast extract, 1% malt extract, dan 0,4% glukosa di dalam 50 mL air laut buatan steril, kemudian diinkubasi pada suhu ruangan selama 7 hari. Inokulum *Actinomycetes* yang telah berumur 7 hari dipindahkan ke labu cawan petri yang diisi dengan 10 g substrat serabut kelapa sawit yang sudah disterilisasi (Laila *et al.*, 2023).

Metode ko-kultivasi dilakukan dengan beberapa modifikasi yaitu perubahan media yang digunakan. Isolat *actinomycetes* ditumbuhkan menggunakan media padat berbasis serabut sawit, kemudian diinkubasi selama 14 hari pada suhu 28 °C sampai *Actinomycetes* tumbuh secara merata. Sebelum proses ko-kultivasi dimulai, bakteri *S. aureus* dan *P. aeruginosa* diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 37 °C selama 2 Jam dalam volume 10 mL. Pada hari ke-4 proses kultur *actinomycetes*, bakteri resisten (*S. aureus* dan *P. aeruginosa*) dimasukkan kedalam Cawan Petri yang berisi *Actinomycetes* dan media kultur. Proses inkubasi dilanjutkan pada suhu 30 °C sampai 14 hari dalam kondisi statik (Frank *et al.*, 2019).

Sebagai kontrol, dilakukan kultivasi menggunakan media standar *International Streptomyces Project 2* (ISP2) serta blanko. Media ISP-2 terdiri dari 1% *malt extract*, 0,4% *yeast extract*, dan 0,4% glukosa yang dilarutkan dalam 50 mL air laut buatan steril, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 14 hari untuk membandingkan pertumbuhannya dengan media serabut kelapa sawit. Blanko dibuat dengan media padat yang hanya berisi serabut kelapa sawit tanpa inokulum *actinomycetes* dan diinkubasi pada kondisi yang sama (Laila *et al.*, 2023).

### 3.3.4 Ekstraksi dan Partisi

Hasil dari kultivasi dan ko-kultivasi diekstraksi menggunakan DCM : MeOH dengan perbandingan 1:1 kemudian dipartisi dengan ditambahkan akuades sebanyak perbandingan yang sama dengan MeOH lalu dimasukkan ke dalam corong pisah. Corong pisah dikocok hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah merupakan fasa organik (fraksi DCM) dan lapisan atas merupakan fasa air. Setiap lapisan dipisahkan ke dalam wadah terpisah kemudian dipekatkan dengan menggunakan *vacum rotary evaporator* pada suhu 40 °C dan tekanan 122 mbar (Mewengkang *et al.*, 2022).

### 3.3.5 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Hasil ekstrak kasar (*crude*) yang sudah diperoleh kemudian dilakukan analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk memisahkan komponen berdasarkan tingkat kepolaran senyawa dengan menggunakan plat silika gel F<sub>254</sub> sebagai fase diam yang diberi tanda garis dengan jarak 1,5cm dan jarak tepi atas dengan tepi bawah 3cm serta eluen berupa n-heksana:etil asetat dengan perbandingan 7:3 untuk fraksi DCM dan DCM : Metanol (9 : 1) untuk fraksi air sebagai fase gerak. Selanjutnya *crude* ditotolkan pada plat dan dielusi menggunakan eluen yang kemudian divisualisasi dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Kemudian dilakukan pewarnaan dengan reagen Ce(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, Dragendorff, dan ninhidrin serta

dihitung nilai Rf dari masing-masing spot terhadap jarak elusi pelarut (Setiawan *et al.*, 2022).

### 3.3.6 **Skrining Aktivitas Antibakteri Terhadap *S. aureus* dan *P. aeruginosa* secara Resazurin Microdilution Assay**

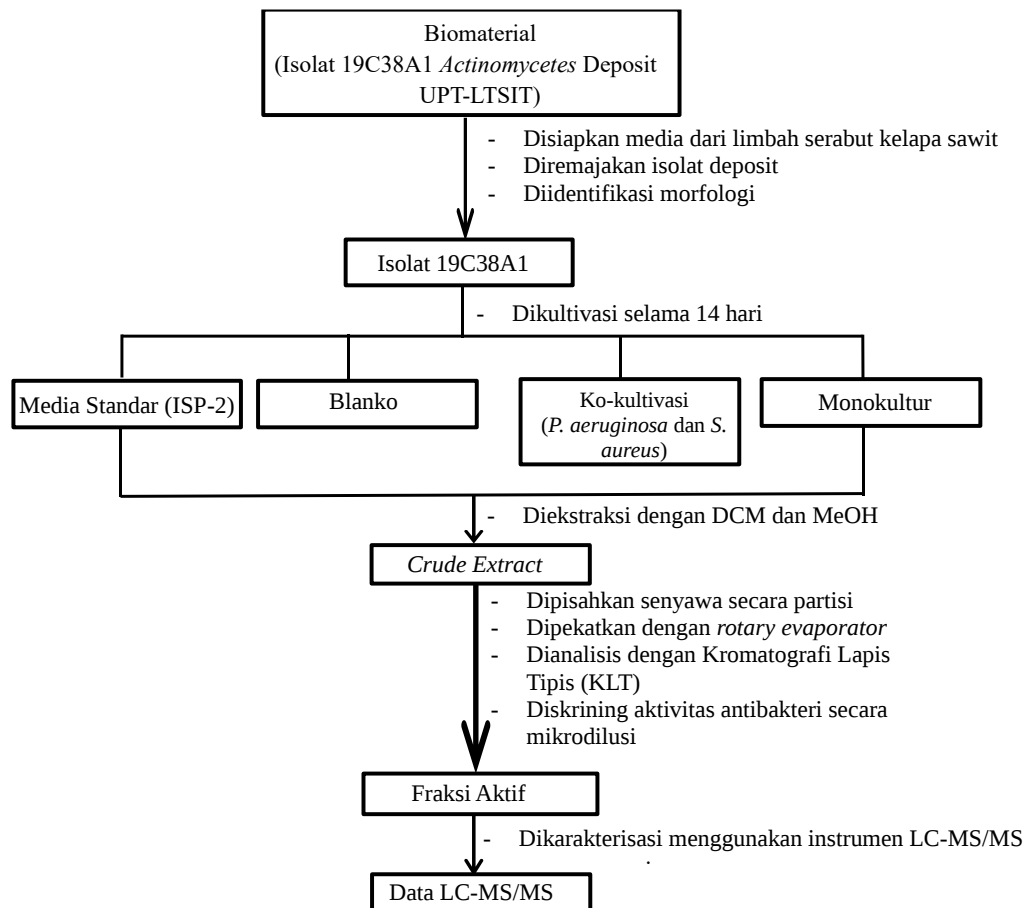
Uji antibakteri dilakukan menggunakan metode *Resazurin Microdilution Assay* sesuai standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dengan *microtiter plate* 96-wells. Suspensi bakteri diperoleh dengan menumbuhkan kultur dalam vial berisi 5 mL *Tryptic Soy Broth* (TSB), kemudian disesuaikan dengan kekeruhan standar 0,5 McFarland ( $OD_{630} = 0,08-0,1$ ) dan diencerkan hingga 1:100 ( $10^6$  CFU/mL). Larutan stok ekstrak kasar dipersiapkan dengan konsentrasi 2 mg/mL, sedangkan kontrol positif menggunakan *ciprofloxacin* dengan konsentrasi yang sama. Kontrol negatif menggunakan DMSO 5%, sementara media TSB berfungsi sebagai kontrol pertumbuhan (blanko), serta sumur tanpa bakteri sebagai kontrol kontaminan. Masing-masing sumur *microtiter plate* diisi dengan 145  $\mu$ L media TSB, 50  $\mu$ L ekstrak uji, dan 25  $\mu$ L suspensi bakteri, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18 jam. Selanjutnya, sebanyak 30  $\mu$ L larutan resazurin 0,02% ditambahkan ke setiap sumur dan diinkubasi kembali selama 2 hingga 4 jam untuk mengamati aktivitas antibakteri yang ditandai dengan perubahan warna (Elshikh *et al.*, 2016).

### 3.3.7 **Karakterisasi *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS)**

Sampel yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri kemudian dianalisis lebih lanjut menggunakan instrumen *Liquid Chromatography - Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) UPLC/Xevo G2-S Qtof di Pusat Laboratorium Forensik Badan Reserse Kriminal POLRI, Sentul-Bogor.

### 3.4 Diagram Alir

Secara menyeluruh alur penelitian ini dapat digambarkan pada diagram penelitian yang ditunjukkan pada Gambar 11.



**Gambar 11.** Diagram alir penelitian

## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Simpulan

Adapun simpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil skrining bioaktivitas isolat *actinomycetes* 19C38A1 menunjukkan sampel pada fraksi DCM dengan kode FM38D, FSa38D, FPa38D, FM38A, dan FSa38A memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dengan konsentrasi 2mg/mL, namun seluruh sampel tidak memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus*.
2. Analisis LC-MS/MS fraksi aktif isolat *actinomycetes* 19C38A1 dengan kode FPa38D menghasilkan profil senyawa bioaktif yang diduga berperan dalam aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* yaitu senyawa golongan diketopiperazin (DKP) dengan rumus molekul  $C_{12}H_{22}N_2O_2$  yang memiliki kemiripan dengan senyawa (3*S*,6*S*)-3,6-diisobutylpiperazine-2,5-dione dengan m/z 227, 1758 yang terdeteksi pada waktu retensi 12,82 menit.

### 5.2 Saran

Berdasarkan penelitian ini, diperoleh informasi awal untuk pengembangan senyawa bioaktif isolat *actinomycetes* 19C38A1 pada media limbah serabut kelapa sawit dan dapat dilakukan pemurnian lebih lanjut guna menghilangkan pengotor yang dapat menghambat aktivitas antibakteri. Selain itu, karakterisasi senyawa dapat diperkuat dengan spektroskopi NMR untuk menentukan struktur secara lebih detail sehingga identifikasi senyawa aktif menjadi lebih akurat.

# **DAFTAR PUSTAKA**

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdelaziz, R., Tartor, Y. H., Barakat, A. B., EL-Didamony, G., Gado, M. M., Berbecea, A., And Radulov, I. 2023. Bioactive metabolites of *Streptomyces misakiensis* display broad-spectrum antimicrobial activity against multidrug-resistant bacteria and fungi. *Frontiers in Cellular And Infection Microbiology*, 13, 1162721.
- Abdullah, D., Kurniawan, E., Ginting, Z., Ishak, I., And Dewi, R. 2022. Pemanfaatan limbah serabut kelapa sawit (*Elaeis guineensis* jacq.) sebagai sumber energi alternatif dalam pembuatan biopellet. *Chemical Engineering Journal Storage (CEJS)*, 2(2), 11.
- Adeyemo, O. M., Ja'afaru, M. I., And Adams, F. V. 2021. Isolation, characterization, antimicrobial and other bioactivity profiles of three *Streptomyces* strains isolated from lake gerio, yola, adamawa state, nigeria. *Bulletin Of The National Research Centre*, 45(1), 147.
- Agour, M. A., Hamed, A. A., Ghareeb, M. A., Abdel-Hamid, E. A. A., And Ibrahim, M. K. 2022. Bioactive secondary metabolites from marine *Actinomyces* sp. Aw6 with an evaluation of adme-related physicochemical properties. *Archives Of Microbiology*, 204(8), 537.
- Alexandri, M., Fernandes, K. V., Guimarães Freire, D. M., Mallouchos, A., Koutinas, A. A., And Tsouko, E. 2019. Extraction of phenolic compounds from palm oil processing residues and their application as antioxidants. *Food Technology And Biotechnology*, 57(1), 29–38.
- Allemailem, K. S. 2024. Recent advances in understanding the molecular mechanisms of multidrug resistance and novel approaches of crispr/cas9-based genome-editing to combat this health emergency. In *International Journal Of Nanomedicine* (19), 1125–1143.
- Aslah, A., Lolo, W. A., And Jayanto, I. 2019. Aktivitas Antibakteri Dan Analisis Klt-Bioautografi Dari Fraksi Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.). *Pharmacon*, 8(2), 505.

- Asworo, R. Y., And Widwastuti, H. 2023. Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia Dan Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Education*, 3(2).
- Atallah, B. M., Haroun, S. A., And El-Mohsnawy, E. 2023. Antibacterial activity of two *Actinomycetes* species isolated from black sand in north egypt. *South African Journal Of Science*, 119(11/12).
- Bahri, S., Fajarwati, A. E., Setiawan, A., Hendri, J., Yuwono, S. D., Ambarwati, Y., And Zainul, R. 2024. Steroid compounds from endophytic (*Penicillium* sp.) Of mangrove *Avicennia marina*. *Journal Of Medicinal And Chemical Sciences*, 7(2), 402–425.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H.-P., Clément, C., Ouhdouch, Y., And Van Wezel, G. P. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of actinobacteria. *Microbiology And Molecular Biology Reviews*, 80(1), 1–43.
- Bertrand, S., Bohni, N., Schnee, S., Schumpp, O., Gindro, K., And Wolfender, J.-L. 2014. Metabolite induction via microorganism co-culture: a potential way to enhance chemical diversity for drug discovery. *Biotechnology Advances*, 32(6), 1180–1204.
- Bharadwaj, A., Rastogi, A., Pandey, S., Gupta, S., And Sohal, J. S. 2022. Multidrug-resistant bacteria: their mechanism of action and prophylaxis. *Biomed Research International*, 2022, 1–17.
- Blind, P. J., Waldenström, A., Berggren, D., And Ronquist, G. 2000. Antitumour effect of l-2,4 diaminobutyric acid on a hepatoma cell line. *Anticancer Research*, 20(6B), 4275–4278.
- Boopathi, S., Vashisth, R., Manoharan, P., Kandasamy, R., And Sivakumar, N. 2017. Stigmatellin y – an anti-biofilm compound from *Bacillus subtilis* br4 possibly interferes in pqs–pqsr mediated quorum sensing system in *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 27(10), 2113–2118.
- Bortolotti, A., Troiano, C., Bobone, S., Konai, M. M., Ghosh, C., Bocchinfuso, G., Acharya, Y., Santucci, V., Bonacorsi, S., Di Stefano, C., Haldar, J., And Stella, L. 2023. Mechanism of lipid bilayer perturbation by bactericidal membrane-active small molecules. *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1865(1), 184079.
- Budi, S., Rusdi Hidayat, M., Ratihwulan, H., Dan Sri. M., 2020. Optimasi proses ekstraksi asam ferulat secara alkali dari serat mesokarp sawit menggunakan metode permukaan respon. *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 15(2), 1–11.
- Buroni, S., Scoffone, V. C., Fumagalli, M., Makarov, V., Cagnone, M., Trespidi, G., De Rossi, E., Forneris, F., Riccardi, G., And Chiarelli, L. R. 2018.

- Investigating the mechanism of action of diketopiperazines inhibitors of the *Burkholderia cenocepacia* quorum sensing synthase cepi: a site-directed mutagenesis study. *Frontiers In Pharmacology*, 9, 836.
- Carvalho, M. P., And Abraham, W.-R. 2012. Antimicrobial and biofilm inhibiting diketopiperazines. *Current Medicinal Chemistry*, 19(21), 3564–3577.
- Chaudhary, H., Yadav, J., Shrivastava, A., Singh, S., Singh, A., And Gopalan, N. 2013. Antibacterial Activity of *actinomycetes* isolated from different soil samples of sheopur (a city of central india). *Journal Of Advanced Pharmaceutical Technology And Research*, 4(2), 118.
- Chinemerem, N., D., Ugwu, M. C., Oliseloke Anie, C., Al-Ouqaili, M. T. S., Chinedu Ikem, J., Victor Chigozie, U., And Saki, M. 2022. Antibiotic resistance: the challenges *and* some emerging strategies for tackling a global menace. *Journal Of Clinical Laboratory Analysis*, 36(9).
- Christo, E. G., Dan Sutedja, A. M. 2024. Solid-state fermentation with various microorganisms. *In Zigma*, 39(1).
- Coelho, V. C., Pereira Neves, S. D., Cintra Giudice, M., Benard, G., Lopes, M. H., And Sato, P. K. 2021. Evaluation of antimicrobial susceptibility testing of *Nocardia* spp. Isolates by broth microdilution with resazurin *and* spectrophotometry. *BMC Microbiology*, 21, 331.
- Del, R. J. Q., Bunick, C. G., Kircik, L., And Bhatia, N. 2024. Topical clindamycin in the management of acne vulgaris: Current perspectives and recent therapeutic advances. *Journal of Drugs in Dermatology*, 23(6), 438–445.
- Diggle, S. P., And Whiteley, M. 2021. Corrigendum: microbe profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen *and* lab rat. *Microbiology*, 167(8).
- Cox, G. And Wright, G.D. 2020. Mechanism of antibacterial resistance, strategies and next-generation antimicrobials. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 160, 71–100.
- Fallo, G. 2017. Isolation *and* screening *Actinomycetes* to produce antimicrobial compounds. *Saintekbu*, 9(2), 38-46
- Fayisa, W. O., And Tuli, N. F. 2023. Review on *Staphylococcus aureus*. In *Int J Of Nursing Care And Research*, 1(2).
- Ferreira, F. S., Silva, A. C. Da ., Aguiar, J. C. R. O. F. De ., Moura, M. C. De ., Pimentel, C. S. L., Coelho, L. C. B. B., Paiva, P. M. G., Napoleão, T. H., And Navarro, D. M. A. F. 2025. Antimicrobial and antibiofilm activities of the essential oil from the inflorescence of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae) and its main constituents (dodecanal and 1-dodecanol). *Journal Of The Brazilian Chemical Society*, 36(4).

- Frank, M., Özkaya, F. C., Müller, W. E. G., Hamacher, A., Kassack, M. U., Lin, W., Liu, Z., And Proksch, P. 2019. Cryptic secondary metabolites from the sponge-associated fungus *Aspergillus ochraceus*. *Marine Drugs*, 17(2), 99.
- Glazer, A. N., And Nikaido, H. 2007. *Microbial biotechnology* (2nd Ed.). Cambridge University Press.
- Gnanasekaran, C., Govindan, R., N., M. K., Chelliah, C. K., Govindan, R., Ranganathan, P., Muthuchamy, M., Quero, F., Arunachalam, A., Ramalinga Viswanathan, M., Alharbi, N. S., And Natesan, M. 2023. Isolation and molecular detection of endophytic *Actinomyces Nocardiosis dassonvillei* dms 1 (mh900216) from marine sea grasses with bacterial inactivation. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 54, 102938.
- Gowrishankar, S., Pandian, S. K., Balasubramaniam, B., And Balamurugan, K. 2019. Quorum quelling efficacy of marine cyclic dipeptide - cyclo(l-leucyl-l-prolyl) against the uropathogen *Serratia marcescens*. *Food And Chemical Toxicology*, 123, 326–336.
- Hameed, K., Khan, M. S., Fatima, A., Shah, S. M., And Abdullah, M. A. 2023. Exploring the word of thin-layer chromatography: a review. *Asian Journal Of Applied Chemistry Research*, 14(3), 23–38.
- Harmita, K., Harahap, Y., And Supandi. 2019. *Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)* (1st Ed.). PT. ISFI Penerbitan.
- Hoshino, S., Onaka, H., And Abe, I. 2019. Activation of silent biosynthetic pathways and discovery of novel secondary metabolites in actinomycetes by co-culture with mycolic acid-containing bacteria. *Journal Of Industrial Microbiology And Biotechnology*, 46(4), 363–374.
- Jia, B., Ma, Y.-M., Liu, B., Chen, P., Hu, Y., And Zhang, R. 2019. Synthesis, antimicrobial activity, structure-activity relationship, and molecular docking studies of indole diketopiperazine alkaloids. *Frontiers in Chemistry*, 7, 837.
- Jia, Y., Zhang, Y., And Zhu, H. 2023. Structure–activity relationship target prediction studies of clindamycin derivatives with broad-spectrum bacteriostatic antibacterial properties. *Molecules*, 28(21), 7357.
- Jose, P. A., And Jebakumar, S. R. D. 2013. Phylogenetic appraisal of antagonistic, slow growing *Actinomyces* isolated from hypersaline inland solar salterns at sambhar salt lake, india. *Frontiers In Microbiology*, 4(1), 190.
- Kapadia, C., Kachhda, R., Singh, S., Gandhi, K., Pocza, P., Alfarraj, S., Ansari, M. J., Gafur, A., And Sayyed, R. Z. 2022. *Pseudomonas aeruginosa* inhibits quorum-sensing mechanisms of soft rot pathogen *Lelliottia amnigena* rce to regulate its virulence factors and biofilm formation. *Frontiers In Microbiology*, 13, 977669.

- Laila, A., Setiawan, F., Widyastuti, W., Fadhilah, M.R., Setiawan, A., Juliasih N.L.G.R., Setiawan, W.A., Apriliana, E., Ahmadi, P., And Arai, M. 2023. Exploration and biorefinery antimicrobial agent through solid state fermentation from indonesia's marine *Actinomycetes*. *Fermentation*. 9(4):334.
- Lang, P. A., de Munnik, M., Oluwole, A. O., Claridge, T. D. W., Robinson, C. V., Brem, J., And Schofield, C. J. 2024. How clavulanic acid inhibits serine  $\beta$ -lactamases. *ChemBioChem*, 25(22), e202400280.
- Li, J., Zhang, X.-Y., Xu, H., Yang, M., Gu, Y.-Q., Ge, C., And Wu, G. X. 2024. Anti-inflammatory fatty acid derivatives from mangrove-derived *Actinomycetes Streptomyces* sp. *Chemistry & Biodiversity*, 22(3): e202401946.
- Li, M., Yang, G., Wang, Y., Yong, G., Wang, H., Bie, M., And Wang, G. 2024. Establishment and evaluation of a resazurin-based microdilution assay for microbial sensitivity test of *neisseria gonorrhoeae* [article in chinese]. *Zhonghua Nan Ke Xue*, 55(1), 198–203.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., And Jiang, C. 2016. Morphological identification of actinobacteria. In *Actinobacteria - Basics And Biotechnological Applications* : (58-96).
- Maftukhah, S. 2020. Aplikasi *bacillus* sp pada produksi enzim menggunakan metode fermentasi padat - review. *Unistek*, 7(1), 6–9.
- Malelak, M. C. C., Wuri, D. A., Dan Tangkonda, E. 2015. Tingkat cemaran *Staphylococcus aureus* pada ikan asin di pasar tradisional kota kupang. *Jurnal Kajian Veteriner*, 3(2), 147–163.
- Mangurana, W. O. I., Yusnaini, Y., Dan Sahidin, S. 2019. Analisis lc-ms/ms (liquid chromatograph mass spectrometry) dan metabolit sekunder serta potensi antibakteri ekstrak n-heksana spons *Callyspongia aerizusa* yang diambil pada kondisi tutupan terumbu karang yang berbeda di perairan teluk staring. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 131–141.
- Martín, V. R., Millán, F. R., Cuadrado, C., Daranas, A. H., Medarde, A. F., And López, J. M. S. 2023. Induction of new aromatic polyketides from the marine actinobacterium *Streptomyces griseorubiginosus* through an osmac approach. *Marine Drugs*, 21(10), 526.
- Mewengkang, T. T., Lintang, R. A., Losung, F., Sumilat, D. A., And Lumingas, L. J. L. 2022. Identification of bioactive compounds and antibacterial activity of sea cucumber, holothuria (halodeima) *Atra jaeger* 1833 flesh extract from kalasey coastal waters, minahasa district. *Jurnal Ilmiah PLATAX*, 10(2), 355.

- Mora, O., M., And Lohans, C. T. 2021. B-lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates. *RSC Medicinal Chemistry*, 12(10), 1623–1639.
- Ngamcharungchit, C., Chaimusik, N., Panbangred, W., Euanorasetr, J., And Intra, B. 2023. Bioactive metabolites from terrestrial and marine *Actinomycetes*. *Molecules*, 28(15), 5915.
- Palomino, J. C., Martin, A., Camacho, M., Guerra, H., Swings, J., And Portaels, F. 2002. Resazurin microtiter assay plate: simple and inexpensive method for detection of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 46(8), 2720–2722.
- Parrish, N. M., Kuhajda, F. P., Heine, H. S., Bishai, W.R., And Dick, J.D., 1999. Antimycobacterial activity of cerulenin and its effects on lipid biosynthesis. *J Antimicrob Chemother*. 43(2): 219-26.
- Patel, A. M., Upadhayay, D., Andhare, P., And Prajapati, P. 2021. A review on *Actinomycetes*. *International Journal Of Biology, Pharmacy And Allied Sciences*, 10(4).
- Peng, X.-Y., Wu, J.-T., Shao, C.-L., Li, Z.-Y., Chen, M., And Wang, C.-Y. 2021. Co-culture: stimulate the metabolic potential and explore the molecular diversity of natural products from microorganisms. *Marine Life Science And Technology*, 3, 363–374.
- Pokorny L, Hausmann B, Pjevac P, Schagerl M. 2022. How to verify non-presence the challenge of axenic algae cultivation. *Cells*. 11(16):2594.
- Popova, M., And Bankova, V. 2023. Contemporary methods for the extraction and isolation of natural products. *BMC Chemistry*, 17(1), 68.
- Pratami, S., Dan Pradika, Y. 2023. Identifikasi bakteri penyebab infeksi nosokomial (*Pseudomonas aeruginosa*) pada lantai intensive care unit (icu). *Jurnal Medical Laboratory*, 2(1), 9–19.
- Putri, A. O., Hati, M. C., Ishanti, N. P., Dan Ilham, H. S. 2024. Identifikasi senyawa flavonoid pada beberapa jenis tanaman dengan kromatografi lapis tipis: literature review. *Pharmadematica : Jurnal Kefarmasian Dan Gizi*, 3(2), 45–54.
- Rahardja, I. B., Hasibuan, C. E., Dan Dermawan, Y. 2022. Analisis briket fiber mesocarp kelapa sawit metode karbonisasi dengan perekat tepung tapioka. *Sintek Jurnal: Jurnal Ilmiah Teknik Mesin*, 16(2), 82.
- Rosero, C. G., Rodríguez, J. R. M., Aguilar, C. N., Buitrón, G., Chairez, I., And Ruiz, H. A. 2021. Microbial co-culturing strategies for the production high value compounds, a reliable framework towards sustainable biorefinery implementation – an overview. *Bioresource Technology*, 321, 124458.

- Sanita, L., M., And Coutinho De Lucas, R. 2022. Co-cultivation, co-culture, mixed culture, and microbial consortium of fungi: an understudied strategy for biomass conversion. *Frontiers In Microbiology*, 12.
- Santajit, S., Sookrung, N., And Indrawattana, N. 2022. Quorum sensing in escape bugs: a target for combating antimicrobial resistance and bacterial virulence. *Biology*, 11(10), 1466.
- Setiawan, A., Setiawan, F., Juliasih, N. L. G. R., Widyastuti, W., Laila, A., Setiawan, W. A., Djailani, F. M., Mulyono, M., Hendri, J., And Arai, M. 2022. Fungicide activity of culture extract from *Kocuria palustris* 19c38a1 against *Fusarium oxysporum*. *Journal Of Fungi*, 8(3), 280.
- Setiawan, A., Widyastuti, W., Irawan, A., Wijaya, O. S., Laila, A., Setiawan, W. A., Juliasih, N. L. G. R., Nonaka, K., Arai, M., And Hendri, J. 2021. Solid state fermentation of shrimp shell waste using *Pseudonocardia carboxydvorans* 18A13O1 to produce bioactive metabolites. *Fermentation*, 7(4), 247.
- Shiragami, R., Murata, S., Kosugi, C., Tezuka, T., Yamazaki, M., Hirano, A., Koda, K. 2013. Enhanced antitumor activity of cerulenin combined with oxaliplatin in human colon cancer cells. *International Journal Of Oncology*, 43, 431-438.
- Siegrist, J. 2010. *Pseudomonas* a communicative bacteria. *Microbiology Focus*. 2(4): 2-4.
- Soccol, C. R., Costa, E. S. F. Da, Letti, L. A. J., Karp, S. G., Woiciechowski, A. L., And Vandenberghe, L. P. De S. 2017. Recent developments and innovations in solid state fermentation. *Biotechnology Research And Innovation*, 1(1), 52–71.
- Song, Z., Hou, Y., Yang, Q., Li, X., And Wu, S. 2021. Structures and biological activities of diketopiperazines from marine organisms: a review. *Marine Drugs*, 19(8), 403.
- Sowmya, K. L., And Ramalingappa, B. 2022. Biochemical characterization of Actinomycetes isolated from different soil samples. *International Journal Of Science And Research (IJSR)*, 11(2), 1068–1072.
- Tahir, P., Liew, W.-P.-P., Lee, S. Y., Ang, A. F., Lee, S. H., Mohamed, R., And Halis, R. 2019. Diversity and characterization of lignocellulolytic fungi isolated from oil palm empty fruit bunch, and identification of influencing factors of natural composting process. *Waste Management*, 100, 128–137.
- Taj, M. B., Raheel, A., Ayub, R., Alnajeebi, A. M., Abualnaja, M., Habib, A. H., Alelwani, W., Noor, S., Ullah, S., Al-Sehemi, A. G., Simsek, R., Babteen, N. A., And Alshater, H. 2023. Exploring novel fluorine-rich fuberidazole

- derivatives as hypoxic cancer inhibitors: design, synthesis, pharmacokinetics, molecular docking, and dft evaluations. *Plos One*, 18(2).
- Tan, Y.-S., Zhang, R.-K., Liu, Z.-H., Li, B.-Z., And Yuan, Y.-J. 2022. Microbial adaptation to enhance stress tolerance. *Frontiers In Microbiology*, 13(888746).
- Tangerina, M. M. P., Furtado, L. C., Leite, V. M. B., Bauermeister, A., Velasco-Alzate, K., Lopes, N. P., And Costa-Lotuf, L. V. 2020. Metabolomic study of marine *Streptomyces* sp.: secondary metabolites and the production of potential anticancer compounds. *Plos One*, 15(12).
- Tarasova, E. V., Luchnikova, N. A., Grishko, V. V., And Ivshina, I. B. 2023. *Actinomycetes* as producers of biologically active terpenoids: current trends and patents. *Pharmaceuticals (Basel)*, 16(6), 872.
- Tiwari, S., And Talreja, S. 2022. Thin layer chromatography (tlc) vs paper chromatography: a review. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*, 05–09.
- Todar. 2008. *Staphylococcus Aureus And Staphylococcal Disease*. University of Wisconsin Madison. Wisconsin.
- Tuloli, T. S., Abdulkadir, W. S., Aprianto Paneo, M., And Abdullah, N. 2023. Tingkat pengetahuan dan persepsi masyarakat tentang vaksin covid-19 studi kasus : kota gorontalo. *Indonesian Journal Of Pharmaceutical Education*, 3(1).
- Wahyuningrum, S. A., Bahar, M., And Pramono, A. P. 2021. Uji daya hambat isolat *Actinomycetes* sebagai antibakteri terhadap pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* atcc 27853 secara *in vitro*. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 10(1), Artikel 1595.
- Wang, M., Zhang, Y., Wang, R., Wang, Z., Yang, B., And Kuang, H. 2021. An evolving technology that integrates classical methods with continuous technological developments: thin-layer chromatography bioautography. *Molecules*, 26(15), 4647.
- WHO. 2022. *Global Antimicrobial Resistance And Use Surveillance System (GLASS) Report 2022*. World Health Organization.
- Widiani, N. 2023. Mikroba agen biodegradasi lignoselulosa: analisis bibliometrik. *Organisms: Journal Of Biosciences*, 3(1), 1–7.
- Xiong, Z., Wang, R., Xia, T., Zhang, S., Ma, S., And Guo, Z. 2023. Natural products and biological activity from *Actinomycetes* associated with marine algae. *Molecules*, 28(13), 5138.
- Yafetto, L. 2022. Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020: a review and bibliometric analysis. *In Heliyon*, 8(3): 1-8.

- Yang, X., Ye, W., Qi, Y., Ying, Y., And Xia, Z. 2021. Overcoming multidrug resistance in bacteria through antibiotics delivery in surface-engineered nano-cargos: recent developments for future nano-antibiotics. In *Frontiers In Bioengineering And Biotechnology*, 9(1): 5-9.
- Yang, Y., Zhang, Y., Li, Y., Wang, L., And Zhao, Y. 2021. Cross protection of lactic acid bacteria during environmental stresses: stress responses and underlying mechanisms. *Food Research International*, 140(110038).
- Zahroh, E. W., Ningsih, F., And Sjamsuridzal, W. 2022. Detection of antimicrobial compounds from thermophilic *Actinomyces* using one strain many compounds (osmac) approach. *Bioline (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 9(1), 76–94.
- Zhang, M., Yu, Q., Guo, J., Wu, B., And Kong, X. 2022. Review of thin-layer chromatography tandem with surface-enhanced raman spectroscopy for detection of analytes in mixture samples. *Biosensors*, 12(11), 937.
- Zhao, B., Lin, X., Lei, L., Lamb, D. C., Kelly, S. L., Waterman, M. R., And Cane, D. E. 2008. Biosynthesis of the sesquiterpene antibiotic albaflavenone in *Streptomyces coelicolor* a3(2). *Journal Of Biological Chemistry*, 283(13), 8183–8189.