PROFIL LIPID Nannochloropsis sp. SEBAGAI ANTIJAMUR MENGGUNAKAN ANALISIS LC-MS/MS

(Skripsi)

Oleh

Sovia Nurlaily NPM 2157011010



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2025

ABSTRAK

PROFIL LIPID Nannochloropsis sp. SEBAGAI ANTIJAMUR MENGGUNAKAN ANALISIS LC-MS/MS

Oleh

Sovia Nurlaily

Nannochloropsis sp. merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelompok alga hijau yang berbentuk bola dengan diameter kecil, berkisar antara 2-8 μm. Mikroalga ini telah diidentifikasi mampu memproduksi lipid sekitar 60% dari berat keringnya dan berperan sebagai agen antijamur.

Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis profil lipid dari ekstrak *Nannochloropsis sp.* menggunakan LC-MS/MS dan menguji aktivitas antijamur *Malassezia globosa* dari mikroalga tersebut. Tahapan metode meliputi kultivasi mikroalga, pemanenan, ekstraksi, partisi cair-cair, KLT, KLT-Bioautografi kontak, difusi agar, kromatografi kolom, difusi cakram dan analisis LC-MS/MS.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kultivasi *Nannochloropsis* sp. dalam media Conway menghasilkan produktivitas biomassa sebesar 1,55 g $L^{-1}d^{-1}$. Analisis profil lipid polar menggunakan LC-MS/MS mengidentifikasi lima senyawa utama dengan waktu retensi masing-masing pada 5,14; 5,55; 14,83; 15,68; dan 16,69 menit. Senyawa lipid terdeteksi dengan nilai m/z sebesar 792,6127 yang berpotensi memiliki aktivitas antijamur *Malassezia globosa*.

Kata Kunci: Antijamur, LC-MS/MS, Lipid, Nannochloropsis sp.

ABSTRACT

LIPID PROFILE OF *Nannochloropsis sp.* AS ANTIFUNGAL USING LC-MS/MS ANALYSIS

By

Sovia Nurlaily

Nannochloropsis sp. is a microalgae included in the group of green algae that is spherical with a small diameter, ranging from 2-8 µm. This microalgae has been identified as being able to produce lipids of around 60% of its dry weight and acts as an antifungal agent. This study aims to analyze the lipid profile of Nannochloropsis sp. extract using LC-MS/MS and test the antifungal activity of Malassezia globosa the microalgae. The method stages include microalgae harvesting, extraction, liquid-liquid partition, Bioautography contact, agar diffusion, column chromatography, disc diffusion and LC-MS/MS analysis. The results of this study indicate that the damage of Nannochloropsis sp. in Conway media resulted in biomass productivity of 1.55 $gL^{-1}d^{-1}$. Analysis of the polar lipid profile using LC-MS/MS detected five main compounds with retention times of 5.14; 5.55; 14.83; 15.68; and 16.69 minutes, respectively. Lipid compounds were detected with an m/z value of 792.6127 which has the potential to have antifungal activity against Malassezia globosa.

Keywords: Antifungal, LC-MS/MS, Lipids, Nannochloropsis sp.

PROFIL LIPID Nannochloropsis sp. SEBAGAI ANTIJAMUR MENGGUNAKAN ANALISIS LC-MS/MS

Oleh

Sovia Nurlaily

Skripsi

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar SARJANA SAINS

Pada

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM UNIVERSITAS LAMPUNG BANDAR LAMPUNG 2025

Judul

PROFIL LIPID Nannochloropsis sp. SEBAGAI ANTIJAMUR

MENGGUNAKAN ANALISIS

LC-MS/MS

Nama

Sovia Nurlaily

NPM

2157011010

Program Studi

Kimia

Fakultas

Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II

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

NIP. 197707132009122002

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

2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung

Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. NIP. 197205302000032001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

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

Ratt

Sekretaris

Prof. Andi Setiawan, Ph.D.

: Prof. Drs. John Hendri,, M.S., Ph.D.

Anggota

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 05 Agustus 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama

: Sovia Nurlaily

Nomor Pokok Mahasiswa

: 2157011010

Program Studi

: Kimia

Fakultas

: Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Perguruan Tinggi

: Universitas Lampung

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul Profil Lipid *Nannochloropsis Sp.* Sebagai Antijamur Menggunakan Analisis LC-MS/MS adalah benar karya saya sendiri, baik gagasan, metode, hasil, dan analisisnya. Selanjutnya, saya juga tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan dan sepanjang nama saya disebutkan.

Bandar Lampung, 21 Agustus 2025 Menyatakan



Sovia Nurlaily NPM. 2157011010

RIWAYAT HIDUP



Penulis Bernama lengkap Sovia Nurlaily, lahir di Padang Cermin, 19 Juli 2004 dan merupakan anak dari Bapak Wachidin Buchori dan Ibu Nur Rohmah. Saat ini penulis bertempat tinggal di Dusun Rawa Tunggal RT 002 RW 001, Desa Padang Cermin Kec. Padang Cermin, Kab. Pesawaran, Lampung. Penulis memulai Pendidikan di Taman Kanak-Kanak Dharma Wanita pada tahun 2008 dan lulus pada

tahun 2009. Kemudian, Penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Dasar Negeri 10 Padang Cermin pada tahun 2009. Pada tahun 2015, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Pertama Negeri 14 Padang Cermin dan lulus pada tahun 2018. Kemudian, penulis melanjutkan pendidikan di Sekolah Menengah Atas Negeri 1 Padang Cermin dan selesai pada tahun 2021.

Penulis diterima di Jurusan S1 Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung pada tahun 2021. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif berorganisasi mulai dari Kader Muda Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) pada tahun 2021. Pada tahun 2022-2023 penulis aktif di HIMAKI sebagai anggota Biro Usaha Mandiri (BUM). Mulai tahun 2022-2024 penulis aktif sebagai staff kementrian Sosial Kemasyarakatan (Sosmas) BEM Universitas Lampung. Penulis pernah mengikuti kegiatan sosial seperti Karya Wisata Ilmiah yang diselenggarakan oleh BEM-FMIPA Universitas Lampung tahun 2021. Pada bulan Januari-Februari 2024 penulis mengeksplor diri dengan mengikuti KKN di Desa Ngesti Karya, Kabupaten Lampung Timur. Penulis juga melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Balai Standardisasi dan Pelayanan Jasa Industri Bandar Lampung (BSPJI). Pada bulan Januari-Februari 2024, serta menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar dan Unit Penunjang Akademik Laboratorium Terpadu dan Sentral Inovasi Teknologi (UPA LTSIT),

Universitas Lampung dengan judul "Profil Lipid Nannochloropsis Sp. Sebagai Antijamur Menggunakan Analisis LC-MS/MS".

MOTTO HIDUP

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًّا

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan" (QS. Asy-Syarh ([94]: 5)

"Lelah dan luka adalah bagian perjalanan, bukan alasan untuk berhenti" (Sovia Nurlaily)

"Aku membahayakan nyawa ibuku untuk lahir ke dunia, jadi tidak mungkin aku tidak ada artinya"
(Sovia Nurlaily)

"Nilai memang penting tetapi menjadi manusia yang memiliki attitude yang baik, tidak menjatuhkan orang lain, memiliki empati dan integritas adalah segalanya" (Jofinka)

PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil Alamin, dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya, karya sederhana ini kupersembahkan untuk :

Orang tua tercinta

Terima kasih karena selalu memberikan doa, kasih sayang, dukungan, dan pengorbanan tanpa batas.

Rasa hormat saya kepada:

Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M. Si. Prof. Andi Setiawan, Ph.D.

Terima kasih atas waktu, bimbingan, arahan, ilmu, serta dukungan dalam proses penyusunan skripsi ini.

Bapak Ibu dosen Jurusan Kimia

Terima kasih telah mengajarkan, dan menanamkan ilmu serta nilai-nilai berharga selama masa perkuliahan.

SANWACANA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT, yang telah memberikan rahmat, hidayah dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "Profil Lipid Nannochloropsis Sp. Sebagai Antijamur Menggunakan Analisis LC-MS/MS" sebagai salah satu syarat untuk mendapatkan gelar Sarjana Sains pada jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung. Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas bantuan berupa dorongan, bimbingan, semangat, nasehat, dan kerja sama dari berbagai pihak antara lain:

- 1. Panutan dan pintu surga penulis yakni Bapak Wachidin Buchori dan Ibu Nur Rohmah. Terima kasih atas setiap tetes keringat dalam setiap langkah pengorbanan dan kerja keras yang dilakukan untuk memberikan yang terbaik kepada penulis, mengusahakan segala kebutuhan penulis, mendidik, membimbing, dan selalu memberikan kasih sayang yang tulus, motivasi, serta dukungan dan mendoakan penulis dalam keadaan apapun agar penulis mampu bertahan untuk melangkah setapak demi setapak dalam meraih mimpi di masa depan.
- 2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- 3. Ibu Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si. selaku ketua jurusan kimia FMIPA Universitas Lampung.
- 4. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, M. Si. selaku komisi pembimbing I skripsi. Terima kasih telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dengan penuh kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini.

- 5. Bapak Prof. Andi Setiawan, Ph.D. selaku komisi pembimbing II skripsi.

 Terima kasih telah meluangkan waktu, memberikan bimbingan, arahan, dan motivasi dengan penuh kesabaran selama proses penyusunan skripsi ini.
- 6. Bapak Prof. Drs. John Hendri,, M.S., Ph.D. selaku pembahas yang telah memberikan masukan dan saran yang membantu sehingga skripsi ini menjadi lebih baik dan terarah.
- 7. Ibu Hapin Afriyani, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing, memberikan nasihat, dan membantu penulis selama menempuh studi di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.
- 8. Bapak Ibu Dosen jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung atas segala ilmu, pengalaman, dan motivasi yang telah diberikan selama masa perkuliahan.
- 9. Rekan-rekan *NGR Research*, Hurin dan Hasma yang saling memberikan semangat, bantuan, dan keceriaan sehingga proses penelitian dapat berjalan dengan lancar dan menyenangkan. Kebersamaan dan dukungan kalian menjadi bagian yang sangat berarti dalam perjalanan ini.
- 10. Rekan-rekan Kimia angkatan 2021 terutama teman teman Kimia 21B terimakasih atas kebersamaannya dan segala bantuan selama masa kuliah.
- 11. Sahabat dari masa kecil, Klara dan Vivi, terima kasih telah menjadi saksi setiap cerita, setiap perjuangan, dan setiap mimpi. Kehadiran beliau adalah pengingat bahwa jarak dan waktu tak pernah memisahkan hati yang tulus.
- 12. Kakak-kakak sekaligus teman cerita penulis, Bowo dan Dedi yang senantiasa memberi dukungan dan menjadi tempat berkeluh kesah. Terima kasih karena telah mengajarkan untuk selalu berusaha kuat dan bertahan di setiap keadaan apapun.
- 13. Keluarga tercinta, terima kasih atas doa, dukungan, dan kasih sayang yang tak pernah putus selama penulis menempuh pendidikan. Terima kasih untuk setiap motivasi, pengorbanan, dan kepercayaan yang diberikan. Kalian adalah alasan terkuat penulis untuk terus berjuang dan tidak menyerah. Semoga Allah selalu memberikan kesehatan, kebahagiaan, dan keberkahan untuk keluarga kita.
- 14. Sahabat-sahabat tersayang Elis, Aca, Lupi, Hurin, Debora dan Adel. Terima kasih untuk setiap hari yang kita lewati bersama, untuk ruang yang selalu

menerima, dan untuk tawa yang tak pernah gagal menghapus lelah. Terima kasih sudah menjadi keluarga, menjadi sandaran di masa sulit, dan teman berbagi mimpi. Semoga jalan yang kita tempuh masing-masing akan membawa kita pada kesuksesan, namun tetap saling menemukan satu sama lain di setiap persimpangan hidup.

- 15. Teruntuk pemilik NRP 03011554 yang telah menjadi bagian penting dalam perjalanan hidup penulis. Terima kasih telah menjadi rumah untuk melepas keluh kesah, segala usaha yang diberikan, baik tenaga, materi maupun waktu kepada penulis. Sudah selalu mendukung dan menghibur, memberi semangat, menyaksikan setiap tangisan dalam proses penyusunan tugas akhir, dan selalu mengingatkan penulis untuk menyelesaikan tugas akhir ini.
- 16. *Last*, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada satu sosok yang selama ini sudah berjuang, seorang perempuan sederhana dengan impian tinggi, namun sering terjebak oleh isi pikiran dan hati. Terima kasih sudah menepikan ego dan memilih untuk kembali bangkit dan menyelesaikan semua ini. Terima kasih telah mengendalikan diri dari berbagai tekanan di luar keadaan dan tak pernah mau memutuskan untuk menyerah. Kamu hebat, Sovia.

Bandar Lampung, 21 Agustus 2025 Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBARvii				
DA	DAFTAR TABELviii			
I.	PENDAHULUAN	1		
	1.1. Latar Belakang	1		
	1.2. Tujuan Penelitian	3		
	1.3. Manfaat Penelitian	3		
II.	TINJAUAN PUSTAKA	4		
	2.1. Mikroalga	4		
	2.2. Nannochloropsis sp			
	2.3. Kandungan Nutrisi Nannochloropsis sp	5		
	2.4. Lipid			
	2.4.1. Kandungan Lipid pada Nannochloropsis sp			
	2.5. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Nannochloropsis sp.			
	2.5.1. Intensitas Cahaya			
	2.5.2. Nutrien			
	2.5.3. Salinitas			
	2.5.4. Temperatur			
	2.6. Laju Pertumbuhan <i>Nannochloropsis sp.</i>			
	2.6.1. Fase Lag (Adaptasi)			
	2.6.2. Fase Eksponensial			
	2.6.3. Fase Stasioner			
	2.6.4. Fase Kematian			
	2.7. Sentrifugasi			
	2.8. Kromatografi Lapis Tipis			
	2.9. Kromatografi Kolom			
	2.10.Jamur Patogen <i>Malassezia globosa</i>			
	2.11.Liquid Chromatography—Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS).	15		
III.	. METODE PERCOBAAN	17		
	3.1. Waktu Penelitian			
	3.2. Alat dan Bahan	17		
	3.3. Prosedur Penelitian	18		
	3.3.1. Kultivasi Nannochloropsis sp	18		
	3.3.2. Pemanenan Nannochloropsis sp	18		

LAMPIRAN		
DA	FTAR PUSTAKA	40
	5.2. Saran	39
	5.1. Simpulan	
V.	SIMPULAN DAN SARAN	
	4.7. Analisis LC-MS/MS	35
	pada Nannochloropsis sp	
	4.6. Pemisahan Lipid dan Uji Aktivitas Antijamur Malassezia globosa	
	4.5. Skrining Antijamur Malassezia globosa	
	4.4. Identifikasi Komponen Senyawa Nannochloropsis sp	28
	4.3. Ekstraksi Nannochloropsis sp.	27
	4.2. Pemanenan Nannochloropsis sp	26
	4.1. Nannochloropsis sp. dan Kultivasi	24
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	24
	3.4. Diagram Alir	23
	3.3.8. Analisis LC-MS/MS	
	3.3.7. Uji Aktivitas Antijamur	
	3.3.6. Pemisahan dan identifikasi lipid pada <i>Nannochloropsis sp.</i>	
	3.3.5. Skrining Antijamur <i>Malassezia globosa</i>	
	3.3.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	
	3.3.3. Ekstraksi <i>Nannochloropsis sp.</i>	
	2.2.2 EL 4.1 ' M	10

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Sel Nannochloropsis sp.	5
2. Struktur klasifikasi lipid	6
3.Kurva Pertumbuhan	10
4. KLT dan Rumus Rf	13
5. Skema LC-MS/MS	15
6. Diagram alir penelitian	23
7. Sel Nannochloropsis sp. perbesaran 400x	24
8. Kultivasi Nannochloropsis sp. Hari ke 1 (a) dan hari ke 9 (b)	25
9. Kurva Pertumbuhan Nannochloropsis sp.	25
10. Pemisahan ekstrak Nannochloropsis sp. menggunakan partisi cair-ca	ir 27
11. Identifikasi KLT pada fraksi DCM (a) Sampel <i>Nannochloropsis sp</i> UV λ254, (c) Sinar UV λ366, dan (d) Serium sulfat	
12. Identifikasi KLT pada fraksi air, (a) Sampel <i>Nannochloropsis sp.</i> , (b) λ254, (c) Sinar UV λ366, dan (d) Ninhidrin	
13. KLT-Bioautografi kontak (a) fraksi DCM dan (b) fraksi air	31
14. Zona hambat fraksi DCM dan fraksi air	32
15. Pemisahan fraksi air menggunakan kromatografi kolom	33
16. Kromatogram KLT dengan serium sulfat	34
17. Hasil uji 3 fraksi terhadap jamur Malassezia globosa	34
18. Kromatogram LC-MS/MS	
19. Spektra massa [M+H] ⁺ dengan m/z 792,6127	38
20. Struktur senyawa 1-heksadesil-2-heneikosanoil-glisero-3-fosfoserin dengan berat molekul 791,6040	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Diameter zona hambat sampel	32
2. Diameter zona hambat 3 fraksi terhadap jamur <i>Malassezia globosa</i>	35
3. Profil senyawa lipid dari Nannochloropsis sp	37

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tren ke arah alga (makroalga dan mikroalga) telah dialami dalam beberapa tahun terakhir oleh negara-negara barat, yang tercermin dalam peningkatan jumlah perusahaan yang memproduksi alga, khususnya di Eropa (Marques *et al.*, 2023). Alga merupakan tumbuhan berklorofil yang berupa sel tunggal atau multiseluler dan berbentuk koloni yang memiliki banyak manfaat karena mengandung bahanbahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, lipid, mineral dan juga senyawa bioaktif. Saat ini, baik makroalga maupun mikroalga telah banyak dimanfaatkan dalam industri farmasi dan kosmetik, makanan, maupun bioteknologi (Ulfa *et al.*, 2023). Selain itu, mikroalga berperan sebagai antioksidan, antibakteri, antivirus, antijamur, antitumor, antihipertensi dan regeneratif. Keragaman mikroalga di dunia diperkirakan berada dalam kisaran jutaan spesies, sebagian besar belum dikenali sehingga belum bisa dikultivasi. Produksi biomassa yang cepat dengan kadar lipid yang relatif tinggi merupakan keunggulan yang dimiliki mikroalga (Constantin *et al.*, 2022).

Lipid yang dihasilkan oleh mikroalga diketahui bisa mencapai 200 kali lipat lebih banyak dibandingkan dengan tanaman penghasil minyak seperti kelapa sawit dan jarak pagar. Berbagai jenis mikroalga telah diidentifikasi memiliki kandungan lipid yang tinggi, salah satunya adalah *Nannochloropsis sp*. Mikroalga ini mampu memproduksi lipid sekitar 60% dari berat keringnya dan juga memiliki toleransi yang baik terhadap berbagai kondisi lingkungan (Sarifah *et al.*, 2023). Secara industri, *Nannochloropsis sp*. dinilai menjanjikan dan dapat

dibudidayakan sebagai sumber nutrisi alternatif karena produktivitasnya yangtinggi, kandungan proteinnya yang kaya, serta komposisi lipid yang berlimpah. Mikroalga ini termasuk dalam kelompok alga hijau yang berbentuk bola dengan diameter kecil, berkisar antara 2-8 µm. Kualitas lipid yang optimal dari *Nannochloropsis sp.*, diperlukan pengaturan lingkungan dan nutrisi yang tepat agar mikroalga ini dapat menghasilkan biomassa yang utuh serta kandungan nutrisi yang maksimal (Dangeubun *et al.*, 2020).

Lipid dari mikroalga memiliki keragaman struktur yang sangat luas, sehingga memerlukan metode analisis dengan kemampuan resolusi tinggi untuk mengidentifikasi dan memprofilkan senyawa-senyawa tersebut secara akurat. Selain itu, analisis struktur lipid menjadi penting untuk menentukan senyawa spesifik yang berpotensi sebagai antijamur. Dalam hal ini, LC-MS/MS dipilih sebagai metode analisis karena mampu memberikan informasi kuantitatif sekaligus struktural dari senyawa yang kompleks. Teknik ini memungkinkan identifikasi profil lengkap lipid dari *Nannochloropsis sp.*, termasuk karakterisasi senyawa bioaktif yang potensial untuk aplikasi farmasi atau bioteknologi. (Abdullah *et al.*, 2017).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Schmid et al (2022), melaporkan potensi mikroalga Nannochloropsis sp. sebagai agen antijamur Sclerotium rolfsii. Penelitian ini menunjukkan bahwa mikroalga Nannochloropsis sp. memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan jamur, sehingga berpotensi sebagai agen antijamur. Informasi mengenai mikroalga Nannochloropsis sp. sebagai antijamur Malassezia globosa masih terbatas. Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitian untuk mengeksplorasi potensi lipid yang diekstrak dari mikroalga Nannochloropsis sp. sebagai senyawa antijamur Malassezia globosa. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan alternatif antijamur yang ramah lingkungan.

1.2. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Melakukan kultivasi mikroalga *Nannochloropsis sp.* menggunakan media nutrisi Conway untuk memaksimalkan produksi lipid.
- 2. Melakukan ekstraksi lipid dari mikroalga *Nannochloropsis sp.* yang telah dikultivasi.
- 3. Menganalisis profil lipid dari ekstrak *Nannochloropsis sp.* menggunakan LC-MS/MS dan menguji aktivitas antijamur dari mikroalga tersebut.

1.3. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai penggunaan lipid mikroalga dalam pengembangan antijamur *Malassezia globosa*.

II. TINJAUAN PUSTAKA

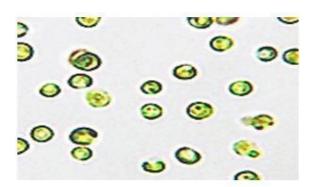
2.1. Mikroalga

Mikroalga dikenal sebagai tanaman yang mempunyai kemampuan menyerap karbondioksida dan sejumlah nutrisi di dalam air kemudian mengubahnya menjadi lipid, protein dan karbohidrat dalam selnya serta melepas oksigen sebagai gas sisa proses metabolisme. Dari beberapa jenis mikroalga yang telah diteliti, salah satu jenis mikroalga yang dapat menghasilkan produk lipid adalah *Nannochloropsis sp.*. Sebenarnya ada dua jenis produk utama yang dapat diambil dari mikroalga ini, yaitu produk lipid dan produk protein. Produk utama lipid maka dilakukan pengurangan asupan nitrogen bagi mikroalga. *Nannochloropsis sp.* pada komdisi budidaya di air laut dengan minim suplai nitrogen yakni mencapai 54% (Ani, 2015).

2.2. Nannochloropsis sp.

Nannochloropsis sp. merupakan organisme autotrof yaitu dengan menyerap karbondioksida pada proses fotosintesis sehingga menghasilkan oksigen. Nannochloropsis sp. juga dapat tumbuh dan berkembang dengan cara berfotosintesis yaitu dengan memanfaatkan sinar matahari sebagai sumber energi dan nutrien anorganik sederhana seperti CO₂, komponen nitrogen terlarut dan fosfat. ketersediaan nutrien yang diabsorbsi dari media kultur merupakan faktor utama pertumbuhan Nannochloropsis sp. yang dipengaruhi oleh ketersediaan zat

hara makro, zat hara mikro dan faktor lingkungan. Klorofil membuat fitoplankton ini mampu melakukan fotosintesis sehingga menjadi sumber protein, karbohidrat, lemak, vitamin dan mineral bagi organisme air (Utami, 2012). Bentuk *Nannochloropsis sp.* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Sel Nannochloropsis sp. (Putri et al., 2019).

Klasifikasi *Nannochloropsis sp.* menurut Anon *et al.*, (2009) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Chromista

Divisi : Chromophyta

Kelas : Eustigmatophyceae

Ordo : Eustigmatales

Familia : Eustigmataceae

Genus : Nannochloropsis

Spesies : Nannochloropsis sp.

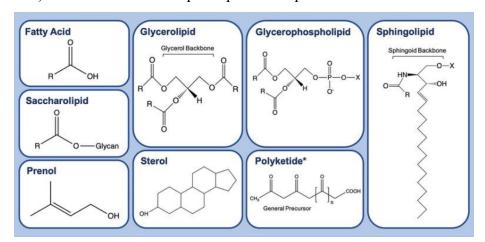
2.3. Kandungan Nutrisi Nannochloropsis sp.

Kandungan nutrisi dari *Nannochloropsis sp.* cukup tinggi dibandingkan dengan mikroalga yang lain dimana kandungan protein *Nannochloropsis sp.* mencapai 52,11%, karbohidrat 16%, lemak 27,64%, vitamin C 0,85%, dan klorofil-a 0,89% (Erlania, 2009). Faktor yang sangat penting dalam kegiatan kultur

Nannochloropsis sp. selain nutrien adalah intensitas cahaya dan lama penyinaran. Cahaya berperan sebagai sumber energi dalam proses fotosintesis dengan bantuan kloroplas. Fotosintesis terdiri atas dua reaksi yaitu reaksi gelap dan terang (fotoperiod), pada keadaan terang, sel akan membelah secara aseksual, sehingga sel anak lebih kecil ukurannya dibanding induknya sedangkan pada keadaan gelap, terjadi perkembangan sel untuk mencapai ukuran normal (Nurdiana *et al.*, 2017).

2.4. Lipid

Lipid adalah molekul organik yang tidak larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik nonpolar dan memiliki sifat hidrofobik, Sifat fisik lipid menentukan fungsi fisiologisnya dalam sel. Sebagai lipid penyimpanan yang penting dalam sel, triasilgliserol (TAG) dan ester sterol (STE) masing-masing merupakan bentuk esterifikasi dari asam lemak bebas dan sterol. Lipid ini tidak bermuatan dan kurang beracun bagi sel. *Internasional Lipid Classification and Nomenclature Committee* (ILCNC) mengelompokkan lipid kedalam delapan katerogi: Asam Lemak (FA), gliserolipid (GL), gliserofosfolipid (GP), sphingolipid (SL), lipid sterol (ST), sakarolipid (LP), lipid prenol (PR) dan poliketida (PK) (Pan et al., 2018). Struktur klasifikasi lipid dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur klasifikasi lipid (Ward et al., 2022).

Lipid yang dihasilkan oleh mikroalga *Nannochloropsis sp.* umumnya dikategorikan sebagai metabolit primer karena berperan penting dalam struktur membran sel dan proses metabolisme dasar. Jenis lipid seperti fosfolipid dan glikolipid membentuk komponen utama membran, sementara asam lemak tak jenuh ganda seperti eikosapentanoat (EPA) berperan dalam menjaga fluiditas membran dan fungsi seluler lainnya. Lipid juga berfungsi sebagai cadangan energi dalam bentuk triasilgliserol (TAG) yang dihasilkan selama fase pertumbuhan aktif. *Nannochloropsis sp.* diketahui mengandung komposisi lipid yang kaya akan EPA, menjadikannya mikroalga yang potensial untuk digunakan dalam bidang pangan fungsional dan kesehatan manusia. Kandungan ini dihasilkan dalam kondisi normal, menunjukkan bahwa EPA dan lipid struktural lainnya merupakan bagian dari metabolit primer *Nannochloropsis sp.* (Zanella dan Vianello., 2020).

2.4.1. Kandungan Lipid pada Nannochloropsis sp.

Lipid merupakan senyawa dasar pembentukan bahan bakar. Asam lemak maupun minyak alga memiliki berbagai aplikasi yang potensial yaitu sebagai bahan yang dapat dipakai sebagai pengganti lipid. Lipid mikroalga dapat langsung diekstrak dari mikroalga dengan beberapa cara, antara lain diekstrak dengan bantuan media pelarut, enzim, ekstraksi ultrasonik dan pemerasan Saat ini telah dikembangkan teknik ekstraksi padat-cair dengan menggunakan pelarut ganda dan juga metode ekstraksi hidotermal pada kondisi suhu dan tekanan tinggi untuk meningkatkan hasil lipid yang diperoleh sampai sekitar 65% berat. *Nannochloropsis sp.* memiliki kandungan lipid yang cukup tinggi berkisar 31-68% (Purwanti, 2015).

Metode konvensional dalam ekstraksi lipid secara umum melibatkan proses penghilangan air sebelum melakukan ekstraksi lipid karena sisa air dalam mikroalga akan menghalangi transfer massa lipid dari sel mikroalga dan akan membuat efisiensi ekstraksi menjadi menurun, akan tetapi konsumsi energi selama pengeringan marupakan energi yang dominan pada proses secara keseluruhan (Yang *et al.*, 2014).

2.5. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan Nannochloropsis sp.

Pertumbuhan mikroalga dipengaruhi oleh berbagai parameter, seperti intensitas cahaya, salinitas, nutrisi, suhu dan lain – lain. Oleh karena itu, parameter kultivasi ini harus dioptimalkan untuk meningkatkan produktivitas biomassa (Chowdury *et al.*, 2020).

2.5.1. Intensitas Cahaya

Intensitas cahaya sangat menentukan banyaknya jumlah energi cahaya yang diterima oleh fitoplankton pada saat dikultur dan jumlah energi cahaya yang diterima fitoplankton mempengaruhi pertumbuhan populasi fitoplankton, dimana jika energi cahaya yang diterima oleh fitoplankton lebih dari kemampuan fitoplankton untuk memanfaatkan cahaya atau terlalu kurang dapat menyebabkan terhambatnya proses reproduksi atau pembelahan sel fitoplankton (Utami, 2012). Cahaya merupakan sumber energi pada saat proses fotosintesis terhadap pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* tetapi energi yang diberikan oleh cahaya bergantung pada kualitas cahaya, intensitas cahaya dan fotoperiode. Lama penyinaran memiliki peranan penting sebagai faktor pendukung pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* Lama penyinaran pada kegiatan kultur fitoplankton juga dapat mempengaruhi proses bahan organik pada fotosintesis (Safia *et al.*, 2023).

2.5.2. Nutrien

Faktor nutrien merupakan salah satu faktor penting yang perlu diperhatikan dalam proses pertumbuhan mikroalga. Nutrien yang dibutuhkan oleh mikroalga terdiri dari makronutrien dan mikronutrien. Makronutrien yang dibutuhkan antara lain: C, H, N, P, K, S, Mg dan Ca, sedangkan mikronutrien yang dibutuhkan antara

lain: Cu, Fe, Co, Mn, Zn, Mo, Vn dan Si. Penambahan nutrisi pertumbuhan ke dalam media kultur mikroalga dinilai merupakan aspek yang paling berpengaruh terhadap kuantitas biomassa hasil kultivasi mikroalga (Auliaa *et al.*, 2021). Mikroalga seperti *Nannochloropsis sp.* menggunakan nutrisi untuk pertumbuhan sel dan produksi biomassa. Pemberian nutrisi yang seimbang mendukung laju pertumbuhan yang tinggi serta peningkatan produksi lipid dan protein yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi industri, seperti biodiesel dan suplemen nutrisi (Guedes *et al.*, 2014).

2.5.3. Salinitas

Faktor lingkungan merupakan faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* selain nutrisi, salinitas merupakan parameter oseanografi yang penting dalam pertumbuhan mikroalga. Faktor salinitas sangat penting karena berpengaruh terhadap tekanan osmotik tubuh. Produktivitas dan daya adaptasi berbagai jenis mikroalga diduga berkaitan erat dengan tingkat salinitas lingkungannya (Rudiyanti, 2011). Menurut Damanik (2020) menjelaskan bahwa salinitas optimal bagi pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* yaitu berkisar antara 25-30 ppt, karena jika salinitas terlalu tinggi atau terlalu rendah menyebabkan tekanan osmotik didalam sel menjadi tinggi atau rendah sehingga aktifitas sel menjadi terganggu.

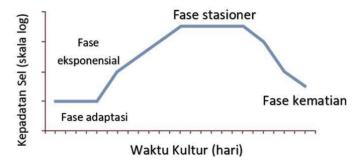
2.5.4. Temperatur

Proses kultivasi dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang secara langsung akan mempengaruhi pertumbuhan dari mikroalga. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga diantaranya suhu, salinitas, dan cahaya (Rafelina *et al.*, 2016) Suhu merupakan salah satu faktor penting yang sangat berpengaruh terhadap kehidupan dan laju pertumbuhan *Nannochloropsis sp.* Suhu

secara langsung mempengaruhi proses fotosintesis dan salah satu faktor yang dapat menentukan pertumbuhan mikroalga. *Nannochloropsis sp.* dapat tumbuh pada kisaran suhu 18-33°C, dengan pertumbuhan optimal terjadi pada suhu 28°C sedangkan pada suhu 33°C pertumbuhan sudah tidak maksimal (Safia *et al.*, 2023).

2.6. Laju Pertumbuhan Nannochloropsis sp.

Siklus hidup *Nannochloropsis sp.* dimulai dari fase lag (adaptasi), eksponensial, penurunan laju pertumbuhan, stasioner dan fase kematian (Safia *et al.*, 2023). Kurva pertumbuhan mikroalga dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3.Kurva Pertumbuhan (Shafiqa Yusof et al., 2023).

2.6.1. Fase Lag (Adaptasi)

Ketika mikroalga dimasukkan ke dalam wadah kultur, sel-sel mikroalga beradaptasi dengan lingkungannya, sel-sel mikroalga secara fisiologis dipersiapkan untuk melakukan pembelahan sel dengan menghasilkan enzim dan senyawa metabolik lain yang dibutuhkan untuk pembelahan sel. Pada fase ini jumlah sel yang membelah masih sedikit sehingga tidak banyak terjadi pertambahan populasi, oleh karena itu disebut fase lag. Fase lag berkisar antara 1-3 hari, tergantung pada jumlah inokulum yang digunakan (kepadatan sel awal), spesies alga, penyinaran dan suhu. Parameter yang dapat mempengaruhi waktu

adaptasi adalah jenis, umur sel mikroalga, ukuran inokulum dan kondisi media tumbuh. Jika media kekurangan nutrisi, fase lag akan berlangsung lebih lama karena sel harus menghasilkan enzim yang sesuai dengan jenis nutrisi yang ada (Tjahjaningsih *et al.*, 2022).

2.6.2. Fase Eksponensial

Setelah fase pertumbuhan lag, sel-sel memasuki fase pertumbuhan eksponensial, dimana sel-sel membelah diri dengan cepat, enzim-enzim dan senyawa-senyawa metabolit yang dibutuhkan untuk pembelahan selsudah tersedia. Fase pertumbuhan dengan tingkat kepadatan meningkat cepat terjadi pada fase eksponensial ditandai pada hari ke-4 sampai hari ke-6. Pada fase ini juga baik jika dikultur kembali. Fase ini juga terjadi serapan nutrisi dari media secara cepat sehingga nutrisi dalam wadah kultur berkurang (Zulfahmi *et al.*, 2021).

2.6.3. Fase Stasioner

Ketersediaan nutrisi yang menurun secara cepat dalam wadah menjadi salah satu faktor penyebab pertumbuhan mikroalga memasuki fase stasioner dimana laju pertambahan sel seimbang dengan laju kematian sel. Secara umum, sel-sel mikroalga memasuki fase stasioner pada hari ke-7 sampai hari ke-9. Bila faktor-faktor pendukung pertumbuhan semakin terbatas, maka sel-sel mikroalga memasuki fase kematian yang ditandai dengan kematian sel-sel dalam jumlah besar sedangkan pembelahan sel hampir tidak terjadi (Zulfahmi *et al.*, 2021).

2.6.4. Fase Kematian

Pada hari ke-10 sampai hari ke-14 *Nannochloropsis sp.* mengalami fase kematian, dimana laju kematian lebih cepat dibandingkan laju pertumbuhannya, sehingga berpengaruh terhadap jumlah kepadatan sel, fase kematian lebih cepat terjadi karena kandungan nutrisi yang ada di dalam media sudah sangat sedikit (Ru'yatin *et al.*, 2015), pada fase kematian ini ditandai dengan jumlah sel pada media kultur secara drastis menurun dan warna air pada media kultur berubah menjadi coklat (Sinaga *et al.*, 2021).

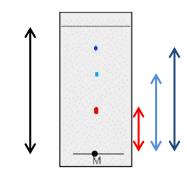
2.7. Sentrifugasi

Sentrifugasi merupakan teknik pengeringan mikroalga yang menguntungkan karena cepat, mudah dan efektif. Paparan sel mikroalga terhadap gaya gravitasi dan geser yang tinggi dapat menyebabkan gangguan sel dan kerusakan struktural. Sentrifugasi mikroalga melibatkan pemisahan fase sel mikroalga dari suspensi dengan penerapan gaya sentrifugal dan hal ini bergantung pada ukuran partikel dan kepadatan komponen medium (Soomro *et al.*, 2016). Operasi ini dapat memisahkan hingga lebih dari 95% mikroalga. Akan tetapi metode ini mengonsumsi energi dalam jumlah besar (Suprihatin, 2020).

2.8. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan salah satu metode kromatografi yang paling sederhana dan umum digunakan dalam proses identifikasi suatu sampel, di mana pemisahan komponen-komponen dalam sampel dilakukan berdasarkan perbedaan kepolaran setiap komponen. Prinsip kerja KLT didasarkan pada konsep "*like dissolves like*" yang berarti senyawa polar akan lebih mudah larut dalam

pelarut polar, sementara senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar. Metode ini melibatkan dua fase, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase diam yang digunakan adalah pelat silika gel GF 254 nm, karena memiliki kemampuan berfluoresensi dengan baik di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm serta mengandung gugus kromofor yang memungkinkan pembentukan noda berwarna sehingga dapat diamati secara visual. Setelah proses pemisahan selesai, noda-noda yang terbentuk diamati secara visual dan di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm, kemudian dihitung nilai *Retardation factor* (Rf) untuk setiap komponen. Nilai Rf yang baik berkisar antara 0,2 hingga 0,8 (Pujiati *et al.*, 2023). KLT dan rumus Rf dapat dilihat pada Gambar 3.



 $Rf = \frac{Jarak\ yang\ ditempuh\ solute}{jarak\ yang\ ditempuh\ fase\ gerak}$

Gambar 4. KLT dan Rumus Rf

2.9. Kromatografi Kolom

Kromatografi adalah teknik pemisahan fisik campuran zat-zat kimia (analit) yang didasarkan pada perbedaan migrasi atau distribusi komponen-komponen campuran tersebut pada fase diam (*stationary phase*) di bawah pengaruh fase gerak (*mobile phase*). Fase gerak dapat berupa gas atau cairan, sedangkan fase diam dapat berupa zat padat atau cair (Rosydiati, 2019). Tujuan utama kromatografi adalah untuk memisahkan senyawa-senyawa dalam suatu campuran. Prinsip kerja kromatografi kolom didasarkan pada perbedaan daya serap masing-

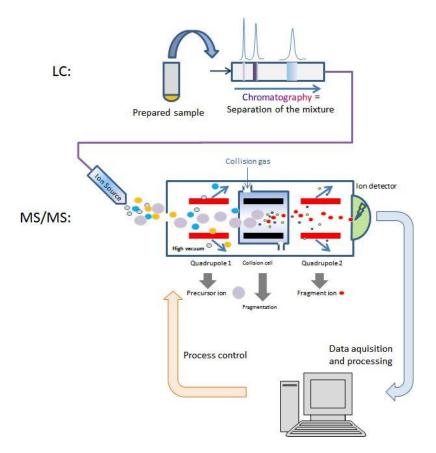
masing senyawa terhadap fase diam. Senyawa yang bersifat polar akan lebih kuat diserap oleh silika gel sehingga bergerak lebih lambat melalui kolom, sementara senyawa nonpolar diserap lebih lemah sehingga bergerak lebih cepat. Pemisahan senyawa di dalam kolom menghasilkan pita-pita serapan yang teratur sesuai dengan polaritas senyawa, dan senyawa-senyawa tersebut akan keluar dari kolom bersama fase gerak (pelarut) yang memiliki polaritas yang sama. Fase gerak yang digunakan dapat berupa pelarut tunggal atau campuran dari dua pelarut dengan perbandingan tertentu. Optimasi pelarut dilakukan melalui uji pendahuluan menggunakan KLT dengan jenis pelarut yang sama, tetapi volume yang lebih kecil (Emilda dan Delfira, 2023).

2.10. Jamur Patogen Malassezia globosa

Jamur merupakan mikroorganisme yan g dapat menyebabkan penyakit pada tumbuhan, hewan, dan manusia. Beberapa jenis jamur dapat menyebabkan infeksi pada kulit, kuku, saluran pernapasan, hingga sistem saraf manusia (Alamsyah et al, 2019). Oleh karena itu, penting untuk menemukan agen antijamur yang efektif dan aman untuk mengatasi infeksi jamur. Tujuan dari uji aktivitas antijamur pada mikroalga Nannochloropsis sp. adalah untuk mengevaluasi efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen. Aktivitas antijamur mengetahui kemampuan suatu zat atau senyawa untuk menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian jamur (Herkamela, 2022). Jamur patogen Malassezia globosa bergantung pada lipid sebagai sumber utama untuk mendukung kelangsungan hidupnya karena tidak mampu mensintesis asam lemak sendiri. Jamur spesies Malassezia menghasilkan berbagai enzim seperti esterase, lipase dan protease yang membantu dalam pemecahan dan penyerapan lemak dari lingkungannya dan untuk memperoleh lipid. Ketergantungan ini berpengaruh dalam proses biologis penting seperti pembentukan membran sel, penyimpanan energi dan metabolisme. Perubahan komposisi lipid di lingkungan sekitarnya dapat memengaruhi pertumbuhan dan adaptasi Malassezia globosa (Celis Ramírez et al., 2020).

2.11. Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS)

Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) adalah teknik analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik dari kromatografi cair dengan spesifisitas deteksi spektrometri massa. Kromatografi cair memisahkan komponen-komponen sampel dan kemudian ion bermuatan dideteksi oleh spektrometer massa. Data LC-MS/MS dapat digunakan untuk memberikan informasi tentang berat molekul, struktur, identitas dan kuantitas komponen sampel tertentu. Senyawa dipisahkan atas dasar interaksi relatif dengan lapisan kimia partikel-partikel (fase diam) dan elusi pelarut melalui kolom (fase gerak). Hasil analisis data LC/MS-MS akan didapatkan kromatogram berupa alur tinggi peak dan akan didapatkan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam ekstrak sehingga dapat di ketahui jumlah senyawa yang dikandung setiap sampel (Safia et al., 2023). LC-MS/MS dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 5. Skema LC-MS/MS (Amir Ashraf et al., 2021).

Prinsip kerja dari LC-MS/MS yaitu pemisahan komponen-komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran yang selanjutnya ion bermuatan akan dideteksi oleh detektor spektrometri massa. Penggunaan LC-MS/MS semakin meningkat pada akhir-akhir ini, dikarenakan semakin kecilnya dosis obat dan semakin kompleknya komposisi obat yang beredar saat ini. Penggunaan LC-MS/MS dapat dilakukan tanpa proses derivatisasi atau cara lain untuk meningkatkan polaritas sampel atau fase gerak, dikarenakan alat tersebut dapat merubah sampel menjadi ion yang mampu dideteksi oleh detektor (Pratiwi, 2022). LC-MS/MS mempunyai kelebihan, yaitu :

Kelebihan LC-MS/MS:

- 1. Selektivitas: Puncak yang keluar bersama dapat diisolasi oleh selektivitas massa dan tidak dibatasi oleh resolusi kromatografi.
- 2. Penetapan puncak: LC-MS/MS mampu menghasilkan sidik jari molekuler untuk senyawa bioaktif dari *Nannochloropsis sp.*, memastikan puncak yang tepat meskipun ada pengaruh dari senyawa lain dalam ekstrak.
- 3. Informasi berat molekul: Konfirmasi dan identifikasi senyawa yang diketahui dan tidak diketahui dari *Nannochloropsis sp*.
- 4. Informasi struktural: Fragmentasi yang terkendali memungkinkan penjelasan struktural suatu bahan kimia.
- 5. Pengembangan metode yang cepat: Menyediakan identifikasi analit yang dielusi dengan mudah tanpa validasi waktu retensi.
- 6. Kemampuan beradaptasi dengan matriks sampel: Mengurangi waktu persiapan sampel dari *Nannochloropsis sp.* dan menghemat waktu sehingga proses analisis menjadi lebih efisien.
- 7. Kuantisasi: Data kuantitatif dan kualitatif komponen dalam *Nannochloropsis sp.* dapat diperoleh dengan mudah dengan optimalisasi instrumen yang terbatas (Kumar *et al.*, 2016).

III. METODE PERCOBAAN

3.1. Waktu Penelitian

Pelaksaan penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2024 – Maret 2025 di Laboratorium Kimia Dasar dan Unit Penunjang Akademik Laboratorium Terpadu dan Sentral Inovasi Teknologi (UPA LTSIT), Universitas Lampung Kota Bandar Lampung. Analisis senyawa lipid menggunakan LC-MS/MS dilaksanakan di Laboratorium Forensik Bogor.

3.2. Alat dan Bahan

Adapun alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri, pinset, jarum ose, vial, bunsen, gelas ukur, beaker glass, pipet tetes, botol kaca 1 L, spatula, alumunium foil, neraca analitik wigen houser, plastik tahan panas, mikropipet, perlengkapan KLT, pipa kapiler, plastik wrap, tisu, kapas, karet gelang, aerator, lampu tube light 7200 lux, sentrifus Hitachi CF16RXII, autoclave Tomy SX-700 High Pressure Steam Sterilizer, rotary evaporator Buchi / Ratavor R-20, haemocytometer Improved Neubauer, mikroskop ZEISS Axio Imager Z2m, kaca preparat, salinometer, hot plate dan LC-MS/MS.

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam percobaan ini antara lain Conway sebagai nutrien, air laut buatan, akuades, bayclin, *cotton bud*, akuades, *ketokonazole*, DMSO PA, alkohol 75%, kentang, C18 (Merck), serium sulfat (Ce₂(SO₄)₃) (Merck), ninhidrin (C₉H₆O₄) (Merck), DCM (CH₂Cl₂) (Merck), *n*-heksana (Merck), etil asetat (C₄H₈O₂) (Merck), metanol (CH₃OH) (Merck) dan *Nannochlorospsis sp.* yang didapatkan dari Laboratorium Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut Lampung (BBPBBL).

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Kultivasi Nannochloropsis sp.

Kultivasi *Nannochloropsis sp.* dilakukan dengan menyiapkan 700 mL media air laut buatan dengan salinitas 26 *parts per thousand* (ppt) yang dimasukkan ke dalam botol kaca berkapasitas 1000 mL, serta ditambahkan inokulum 175 mL dan Conway 0,875 mL. Proses kultivasi dilakukan dengan pencahayaan berintensitas 7200 lux setiap 24 jam, suhu ruangan 24°C dan aerasi dilakukan secara terus-menerus. Komposisi Pupuk Conway dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.2. Pemanenan Nannochloropsis sp.

Pada hari ke-9 biomassa *Nannochloropsis sp.* sebanyak 660 mL dipanen dengan metode sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm dan suhu 4°C selama 5 menit. Metode pemanenan dilakukan menggunakan sentrifugasi dan teramati dua lapisan, media cair pada lapisan atas berupa supernatan sedangkan biomassa terendap di lapisan bawah berupa pelet (Stepanus, 2023).

3.3.3. Ekstraksi Nannochloropsis sp.

Biomassa mikroalga diekstraksi menggunakan pelarut DCM: metanol dengan perbandingan 3:1. Pemilihan pelarut didasarkan pada senyawa target yang diinginkan. Tahap selanjutnya adalah dipartisi cair-cair menggunakan akuades 30 mL dengan cara dikocok dan didiamkan. Hasil partisi membentuk dua lapisan yaitu fasa organik yang berupa fraksi DCM (lapisan bawah) dan fasa air (lapisan atas). Fraksi DCM ditutup dengan aluminium foil yang diberi lubang diatas agar fraksi mengering dan fraksi air dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 27°C dan tekanan 300 mBar.

3.3.4. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fraksi DCM diidentifikasi menggunakan KLT dengan pelat silika sebagai fase diam, sedangkan eluen yang digunakan adalah *n*-heksana : etil asetat (3:1). Setelah proses elusi pada pelat KLT, bercak atau noda yang terbentuk diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Tahap selanjutnya, pelat silika disemprot dengan reagen serium sulfat, kemudian dikeringkan menggunakan *hot plate*. Bercak atau noda yang terbentuk diamati untuk dilakukan perhitungan nilai Rf.

Fraksi air dilakukan analisis KLT juga menggunakan fase diam pelat silika dan fase geraknya DCM: metanol (3:1). Setelah proses elusi pada pelat KLT, bercak atau noda yang terbentuk diamati di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Tahap selanjutnya, pelat disemprot dengan reagen ninhidrin untuk mendeteksi senyawa dalam ekstrak. Pelat KLT kemudian dikeringkan menggunakan *hot plate* dan bercak noda yang terbentuk pada pelat silika dihitung nilai *Retention Factor* (Rf).

3.3.5. Skrining Antijamur Malassezia globosa

Peremajaan jamur patogen dilakukan dengan cara menumbuhkan jamur lokal isolat *Malassezia globosa* ke permukaan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) secara zig-zag dan diinkubasi selama 24 jam.

Uji aktivitas antijamur dilakukan preparasi dengan melakukan sterilisasi alat dan media. Pengujian antijamur terhadap *Malassezia globosa* menggunakan metode difusi agar dan KLT-bioautografi. Larutan stok dibuat dengan melarutkan masing-masing sampel hasil partisi dan *ketokonazole* dalam DMSO 1% dengan konsentrasi 10 mg/mL. Jamur *Malassezia globosa* diambil sebanyak 3 ose selanjutnya dimasukkan ke dalam media *Potato Dextrose Broth* (PDB).

Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras. *Cotton bud* steril direndam ke vial yang berisi jamur *Malassezia globosa* dan media PDB diratakan secara zig-zag ke permukaan media PDA. Ring uji diletakkan di atas permukaan media menggunakan pinset. Sampel dan kontrol dimasukkan sebanyak 50 μL menggunakan mikropipet ke dalam ring. Kontrol positif yang digunakan pada percobaan ini adalah *ketokonazole* dan kontrol negatifnya adalah DMSO 1%. Petri yang berisi media uji kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25°C. Zona bening yang terbentuk diamati dan diameternya diukur.

Metode yang digunakan dalam KLT-Bioautografi adalah metode kontak, yaitu dengan menempelkan lempeng KLT pada medium agar yang telah diinokulasikan jamur uji. Petri yang berisi pelat KLT tersebut didiamkan selama 40 menit di lemari pendingin. Lempeng KLT diangkat dari media, kemudian diinkubasi selama 48 jam untuk dilakukan pengamatan dan perhitungan nilai Rf.

3.3.6. Pemisahan dan identifikasi lipid pada Nannochloropsis sp.

Pemisahan lipid beserta komponennya pada *Nannochloropsis sp.* dilakukan dengan menggunakan kromatografi kolom (KK). Fraksi air dimasukkan ke dalam kolom yang berisi fase diam berupa C18. Setelah fraksi air dituangkan ke dalam kolom, fraksi air akan mengalir melalui fase diam dengan bantuan fase gerak metanol: akuades (7:3) yang mendorong fraksi air melewati fase diam. Keran kolom dibuka dan laju alir diatur agar konsisten pada kecepatan 1 ml/menit. Eluat yang keluar dikumpulkan ke dalam wadah vial yang berbeda untuk setiap fraksinya.

Fraksi kemudian diidentifikasi dengan KLT menggunakan pelat silika sebagai fase diam dan DCM: metanol (3:1) sebagai fase gerak. Setelah proses elusi pelat KLT, bercak atau noda yang terbentuk diamati dibawah sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Tahap selanjutnya, pelat disemprot dengan reagen serium sulfat, kemudian dikeringkan menggunakan *hot plate* dan diamati bercak atau noda yang terbentuk pada pelat silika. Nilai Rf dihitung untuk mengidentifikasi komponen dalam sampel.

3.3.7. Uji Aktivitas Antijamur

Peremajaan jamur patogen dilakukan dengan cara menumbuhkan jamur lokal isolat *Malassezia globosa* ke permukaan media *Potato Dextro Agar* (PDA) secara zig-zag dan diinkubasi selama 24 jam.

Uji aktivitas antijamur dilakukan preparasi dengan melakukan sterilisasi alat dan media. Pengujian antijamur terhadap *Malassezia globosa* menggunakan kertas cakram. Larutan stok dibuat dengan melarutkan masing-masing sampel hasil kolom dan *ketokonazole* dalam DMSO 1% dengan konsentrasi 10 mg/mL. Jamur *Malassezia globosa* diambil sebanyak 3 ose ke dalam media

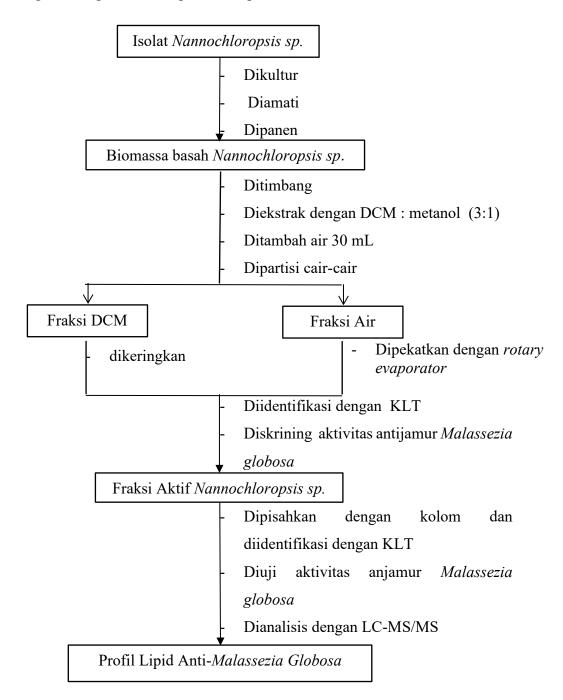
PDB. Media PDA dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan mengeras. Setelah itu, *cotton bud* steril direndam ke vial yang berisi jamur *Malassezia globosa* dan media PDB, diratakan secara zig-zag ke permukaan media PDA. Kertas cakram steril dimasukkan pada tube sampel dan dibiarkan selama 2 menit kemudian kertas cakram diletakkan diatas permukaan media mengggunakan pinset. Kontrol positif yang digunakan pada percobaan ini adalah *ketokonazole* dan kontrol negatifnya adalah DMSO 1%. Petri yang berisi media uji kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 25°C. Zona bening yang terbentuk diamati dan diameternya diukur.

3.3.8. Analisis LC-MS/MS

Prinsip kerja LC-MS/MS adalah suatu analit dipisahkan dalam kolom kromatografi cair kemudian diionisasi dan dipisahkan lagi berdasarkan perbandingan massa dengan muatan (m/z) dari masing- masing ion, sebelum diteruskan pada spektrometer massa yang selanjutnya akan dibaca oleh detektor dan divisualisasi dalam bentuk kromatogram dan fragmentasi senyawa. Analisis LC-MS/MS mengacu pada penelitian Setiawan *et al.*, (2022) Fraksi dilarutkan dalam metanol dan dianalisis menggunakan LC-MS/MS yang dilengkapi dengan sistem ACQUITY UPLC® Kelas H; *Water, Beverly, MA, USA*; dengan kolom ACQUITY UPLC® HSS C18 (1 μl. 8 μm 2). ,1 x 100 mm) (*Water, Beverly, MA, USA*) dan *Xevo G2-S Qtof Mass Spectro (Water, Beverly, MA, USA*).

3.4. Diagram Alir

Diagram alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Diagram alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

- 1. Telah berhasil dilakukan kultivasi *Nannochloropsis sp.* dalam media Conway dengan produktivitas sebesar 1,55 g $L^{-1}d^{-1}$.
- 2. Didapatkan profil lipid polar dengan waktu retensi 5,14; 5,55; 14,83; 15,68; 16,69.
- 3. Hasil analisis LC-MS/MS didapatkan profil lipid yang menjadi senyawa antijamur dengan m/z 792,6127.

5.2. Saran

Potensi *Nannochloropsis sp.* sebagai agen antijamur masih belum banyak diteliti. Untuk mendukung pengembangannya, disarankan dilakukan penelitian dengan menggunakan jenis jamur patogen lain sebagai uji target.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., Hidayati, I., dan Kartika, V. F. 2021. Uji aktivitas Antijamur Ekstrak Black Garlic Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans. Bioma : Jurnal Ilmiah Biologi.* 10(2). 143-157.
- Ahmad, S., Singh, A., Akram, W., Upadhyay, A., and Abrol, G. S. 2025. Algal Lipids: A Review On Current Status and Future Prospects in Food Processing. *Journal of Food Science*. 1-21.
- Alamsyah, H. A., Mulqie, L., dan Hazar, S. 2019. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap Pertumbuhan Fungi *Candida albicans* dan *Microsporum gypseum*. *Prosiding Farmasi*. 5(1). 105-113.
- Amir Ashraf, S., Nazir, S., Adnan, M., and Rashid Azaz Ahmad Azad, Z. 2021. UPLC-MS: An Emerging Novel Technology and Its Application in Food Safety. *Analytical Chemistry Advancement, Perspectives and Applications, June*.
- Auliaa, A. E., Maimunaha, Y., dan Suprastyania, H. 2021. Sebagai Pupuk Dengan Salinitas Yang Berbeda Terhadap Laju. *Journal of Fisheries and Marine Research*. 5(1). 47-55.
- Bawias, M., Kemer, K., Mantiri, D., Kumampung, D., Paransa, D., dan Mantiri, R. 2018. Isolasi pigmen karotenoid pada mikroalga *Nannochloropsis sp.* dengan Menggunakan Beda Pelarut. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*. 6(2). 1.
- Celis Ramírez, A. M., Amézquita, A., Cardona Jaramillo, J. E. C., Matiz-Cerón, L. F., Andrade-Martínez, J. S., Triana, S., Mantilla, M. J., Restrepo, S., Barrios, A. F. G., and Cock, H. de. 2020. Analysis of *Malassezia* Lipidome Disclosed Differences Among the Species and Reveals Presence of Unusual Yeast Lipids. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 10(7). 1-15.
- Chowdury, K. H., Nahar, N., and Deb, U. K. 2020. The Growth Factors Involved in Microalgae Cultivation for Biofuel Production: A Review. *Computational Water, Energy, and Environmental Engineering*. 09(04). 185-215.

- Constantin, C. G., Nicolae, I.-C., Dobrin, A., and Moţ, A. 2022 Lipids Extraction Methods Applied On *Nannochloropsis sp. Biomass-A Review*. 66(2). 376-383.
- Damanik. 2020. Pengaruh Penggunaan Warna Cahaya yang Berbeda Terhadap Pertumbuhan *Nanochloropsis sp. Journal Aquaculture*. 5(2). 99-109.
- Dangeubun, J. L., Letsoin, P. P., dan Syahailatua, D. Y. 2020. Growth of *Nannochloropsis sp.* in Culture Media Enriched With Shrub-Like Annual Clerodendrum Minahassae Leaf Extract. *AACL Bioflux*. 13(5). 2807-2815.
- Deamer, D. W., and Vance, D. E. 2001. Lipid Analysis: Isolation and Characterization. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes, 4th Edition, Elsevier. 15-42.
- Emilda, E., dan Delfira, N. 2023. Pemanfaatan Silika Gel 70-230 Mesh Bekas Sebagai Pengganti Fase Diam Kromatografi Kolom pada Praktikum Kimia Organik. *Indonesian Journal of Laboratory*. 1(1). 45.
- Friedman, M. 2004. Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(3). 385-406.
- Gandhi, A., Consultancy, I., & Shukla, V. J. 2017. Fluorescence Analysis, UV-Vis Analysis and HPTLC Study of Adansonia Digitata. *World Journal of Pharmaceutical Science & Technology*.
- Hasan, H., Andy Suryadi, A. M., Bahri, S., dan Widiastuti, N. L. 2023. Penentuan Kadar Flavonoid Daun Rumput Knop (*Hyptis capitata* Jacq.) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 5(2). 200-211.
- Herkamela, S. W. Y. 2022. Berbagai Bahan Alam Sebagai *Antijamur Malassezia Sp. Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 20(10). 121-127.
- Klimek-Turek, A., Misiołek, B., and Dzido, T. H. 2020. Comparison of the Retention and Separation Selectivity of Aromatic Hydrocarbons with Polar Groups in RP-HPLC Systems with Different Stationary Phases and Eluents. *Molecules*, 25(21).
- Kumar, P. R., Dinesh, S. R., and Rini, R. 2016. Lcms- a Review and a Recent Update. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(5). 377-391.
- Li, J., Wang, X., Zhang, T., Wang, C., Huang, Z., Luo, X., dan Deng, Y. 2015. A Review on Phospholipids and Their Main Applications in Drug Delivery Systems. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 10(2). 81-98.

- Marques, F., Lopes, D., Conde, T., Melo, T., Silva, J., Abreu, M. H., Domingues, P., and Domingues, M. R. 2023. Lipidomic Characterization and Antioxidant Activity of Macro- and Microalgae Blend. *Life*.13(1). 231.
- Pratiwi, D. 2022. Analisis Senyawa Paracetamol (Acetaminophen) Dalam Sampel Urin Menggunakan Metode Kromatografi dan Spektrometri. *Jurnal Health Sains*. 9(4). 356-363.
- Pujiati, L., Sugiyanto, S., dan Hasana, A. R. 2023. Uji Identifikasi Rhodamin B Pada Liptint Di Toko Kosmetik Kota X Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *SENTRI: Jurnal Riset Ilmiah*. 2(11). 4554-4564.
- Purwanti, A. 2015. Pengaruh Proses Ekstraksi Bertekanan dalam Pengambilan Lipid dari Mikroalga Jenis *Nannochloropsis Sp.* dengan Pelarut Metanol. *Jurnal Teknologi Technoscientia*. 7(2). 112-117.
- Putri, A., Pratama, A. O., Rohdiana, A., and Saraswati, R. R. 2019. Smart Microalgae Photobioreactor Helped By Solar Energy As Eco-Green Technology To Reduce CO₂ Emissions in Jakarta, Indonesia. *International Proceeding ASEAN YOUTH CONFERENCE 2018 PPI-MALAYSIA*. 229-235.
- Rafelina, M., Rustam, Y., dan Amini, S. 2016. Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga. *Bioma*. 11(1). 12.
- Rosydiati. 2019. Karakterisasi Puncak Kromatogram Dalam *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) Terhadap Perbedaan Fase Gerak, Laju Alir, dan Penambahan Asam dalam Analisis Indole Acetic Acid (IAA). *Kandaga*. 1(2). 65-73.
- Safia, W. O., Budiyanti, B., Sumitro, S., Yulisnawati, Y., dan Sukendar, W. 2023. Pengaruh Interval Waktu Pencahayaan yang Berbeda Pada Kultur *Nannochloropsis sp.* di Laboratorium. *Jurnal Akuakultura Universitas Teuku Umar*. 7(2) 38-41.
- Sari, P. P., Alamsyah, Y., dan Kornialia, K. 2024. Daya Hambat Ekstrak Daun Mangga (Mangifera indica l.) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*: Studi Deskriptif. *Padjadjaran Journal of Dental Researchers and Students*. 8(1). 128.
- Sari, W. E., Sadri, H., Hasanah, L., Yona, S., Triyuliani, R., Maghfirah, A., Frengki, F., Riandi, L. V., and Riady, G. 2023. Antibacterial Activity of Tamarind Leaf-Based Shampoo Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans*, and *Malesezia globose*. *Jurnal Medika Veterania*. 17(2). 87-93.

- Sarifah, Iba, W., dan Zaeni, A. 2023. Pertumbuhan dan Kandungan Lipid Mikroalga yang Dikultur Menggunakan Pupuk Walne dan Ekstraksi Menggunakan Metode *Microwave Assisted Extraction* Sebagai Bahan Baku Biofuel yang Berkelanjutan. *The Journalish: Social and Government*. 4(5). 138-153.
- Schmid, B., Coelho, L., Schulze, P.S.C., Pereira, H., Santos, T., Maia, I.B., Reis, M., and Varela, J. 2022. Antifungal Properties of Aqueous Microalgal Extracts. *Bioresource Technology Reports*. 18. 1-8.
- Setiabudi, D. A., dan Tukiran. 2017. Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Klampok Watu (Syzygium litorale). *Unesa Journal of Chemistry*. 6(3). 156.
- 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).
- Shafiqa Yusof, N., Ab Ghafar, S. N., Sung, Y. Y., Zakeri, H. A., Wahid, M. E. A., and Yusuf, N. (2023). Oxidative Stress and Antioxidant Activities of *Parachlorella kessleri* At Different Growth Phases. *Journal of Sustainability Science and Management*. 18(7). 137-150.
- Sinaga, L., Putriningtias, A., dan Komariyah, S. 2021. Pengaruh Intensitas Cahaya Terhadap Pertumbuhan *Nannochloropsis sp. Jurnal Akuakultura Universitas Teuku Umar.* 4(2). 31-37.
- Soomro, R. R., Ndikubwimana, T., Zeng, X., Lu, Y., Lin, L., and Danquah, M. K. 2016. Development of a Two-Stage Microalgae Dewatering Process A Life Cycle Assessment Approach. *Frontiers in Plant Science*. 7(113). 1-12.
- Stepanus, J. Bin. 2023. Ekstraksi Komponen Lipid dari Mikroalga *Nannochloropsis oculata dan Nitzschia sp.* dengan Metode Sokletasi dan Bligh Dyer. *Kovalen: Jurnal Riset Kimia*. 9(3). 212-223.
- Suprihatin. 2020. Efisiensi Pemisahan Mikroalga dari Media Tumbuh Limbah Cair Agroindustri dengan Menggunakan Koagulasi / Flokulasi Efficiency of Coagulation / Flocculation Process For Microalgal Separation From Agroindustrial Wastewater. *Jurnal Purifikasi*. 12(1). 17-28.
- Ulfa, S. W., Pulungan, A. H., Amanda, N. B., Salsabila, M., dan Gea, S. H. 2023. Identifikasi Produk Obat yang Berbahan Dasar Alga pada Pasar Tradisional dan Pasar Modern di Kota Medan. *Jurnal Edukasi Nonformal*. 4(1). 178-188.
- Joseph, R., Saramma, A. V., and Kaladharan, P. 2021. Optimization of Media and Culture Conditions and Changes in the Levels of Major Biochemical Constituents During Growth Stages of *Nannochloropsis oculata* in The

- Laboratory. *Journal of the Marine Biological Association of India*. 63(2). 31-35.
- Váczi, P., Čonková, E., Marcinčáková, D., and Sihelská, Z. 2018. Antifungal Effect of Selected Essential Oils on *Malassezia pachydermatis* Growth. *Folia Veterinaria*. 62(2). 67-72.
- Wahju Tjahjaningsih, Anggraini Widihastuti, Bagus Satria, and Ratna Yulianti. 2022. Growth Rate of Microalgae *Nannochloropsis oculata* at Different Culture Scales. *Journal of Aquaculture Science*. 7(2). 140-148.
- Ward, A. V, Anderson, S. M., and Sartorius, C. A. 2022. Advances in Analyzing the Breast Cancer Lipidome and its Relevance to Disease Progression and Treatment. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 26(4). 399-417.
- Zanella, L., and Vianello, F. 2020. Microalgae of the genus *Nannochloropsis*: Chemical Composition and Functional Implications For Human Nutrition. *Journal of Functional Foods*. 68(11). 1756-4646.
- Zulfahmi, I., Meria, R., dan Puspitasari, W. 2021. Teknik Kultur *Nannochloropsis sp.* Skala Laboratorium di Balai Perikanan Budidaya Air Payau Ujung Batee, Aceh Besar. *Kenanga Journal of Biological Sciences and Applied Biology*. 1(1). 31-38.