

**EVALUASI PRODUK HIDROLISIS KULIT UDANG MENGGUNAKAN
ENZIM KITINASE FUNGI *Aspergillus nomiae* (18A12RF) SEBAGAI
AGEN ANTIBAKTERI**

(Skripsi)

Oleh

**ALYSHA MUTIARA SALWA
NPM 2117011016**



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

ABSTRAK

EVALUASI PRODUK HIDROLISIS KULIT UDANG MENGGUNAKAN ENZIM KITINASE FUNGI *Aspergillus nomiae* (18A12RF) SEBAGAI AGEN ANTIBAKTERI

Oleh

ALYSHA MUTIARA SALWA

Udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai konsumsi tinggi dan menjadi produk ekspor unggulan sehingga menghasilkan limbah dalam jumlah besar yang mencemari lingkungan. Salah satu metode efektif untuk mengurangi limbah tersebut dapat dilakukan pemanfaatan kitin pada kulit udang untuk mendapatkan produk bioaktif sebagai agen antibakteri.

Produk bioaktif yang dihasilkan merupakan senyawa *chitooligosaccharides* (COS) dari hidrolisis kitin pada kulit udang menggunakan enzim kitinase. Enzim kitinase didapatkan dari kultivasi isolat fungi *Aspergillus nomiae* (18A12RF) melalui proses fermentasi padat (SSF) menggunakan kulit udang yang diekstraksi menggunakan aquades untuk menghasilkan ekstrak kasar, kemudian enzim dimurnikan dengan presipitasi ammonium sulfat dan dialisis. Ekstrak kasar dan enzim murni dikarakterisasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan spektrofotometer UV-Vis. Hasil karakterisasi didapatkan peningkatan kadar glukosamin dari 574,4 ppm menjadi 696,2 ppm; aktivitas unit enzim dari 0,1068 U/mL menjadi 0,1295 U/mL; penurunan kadar protein dari 822,7 ppm menjadi 197 ppm serta aktivitas spesifik enzim dari 0,1298 U/mg menjadi 0,6573 U/mg.

Enzim murni mendegradasi kulit udang dengan interval waktu 0 (menit awal), 2, 4, 6, dan 8 jam. Uji aktivitas antibakteri dari senyawa COS dilakukan dengan metode *microtiter assay* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Hasil aktivitas antibakteri menunjukkan pada sampel dengan interval jam ke-8 lebih aktif daripada sampel lain. Berdasarkan hasil evaluasi disimpulkan bahwa enzim kitinase yang dihasilkan dari isolat fungi 18A12RF mampu menghidrolisis kitin menjadi produk COS yang dapat menjadi agen antibakteri.

Kata kunci: Enzim kitinase, isolat 18A12RF, kitooligosakarida, dan antibakteri

ABSTRACT

EVALUATION OF HYDROLYZED SHRIMP SHELL PRODUCT USING CHITINASE ENZYME FUNGI *Aspergillus nomiae* (18A12RF) AS ANTIBACTERIAL AGENT

By

ALYSHA MUTIARA SALWA

Shrimp is a fishery commodity with high consumption value and a leading export product, which unfortunately generates a large amount of waste polluting the environment. One effective method to reduce this waste is to utilize chitin from shrimp shells to obtain bioactive products as antibacterial agents. The bioactive products produced are chitooligosaccharides (COS) from the hydrolysis of chitin in shrimp shells using the enzyme chitinase. The chitinase enzyme was obtained from the cultivation of the marine fungal isolate 18A12RF through a SSF process using shrimp shells. The enzyme was extracted to yield a crude extract, then purified by precipitation and dialysis. The crude extract and purified enzyme were characterized using Thin Layer Chromatography and UV-Vis spectrophotometry. Characterization results showed an increase in glucosamine content from 574.4 ppm to 696.2 ppm; enzyme unit activity from 0.1068 U/mL to 0.1295 U/mL; specific enzyme activity from 0.1298 U/mg to 0.6573 U/mg, along with a decrease in protein content from 822.7 ppm to 197 ppm. The purified enzyme degraded shrimp shells at time intervals of initial minute, 2, 4, 6, and 8 hours. The antibacterial activity of COS compounds was tested using the microtiter assay against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The best antibacterial activity was observed in samples from the 8-hour interval. Based on the evaluation results, it is concluded that the chitinase enzyme produced from the fungal isolate 18A12RF is capable of hydrolyzing chitin into COS products that can act as antibacterial agents.

Keywords: Chitinase enzyme, isolate 18A12RF, chitooligosaccharides, and antibacterial

**EVALUASI PRODUK HIDROLISIS KULIT UDANG MENGGUNAKAN
ENZIM KITINASE FUNGI *Aspergillus nomiae* (18A12RF) SEBAGAI
AGEN ANTIBAKTERI**

Oleh

ALYSHA MUTIARA SALWA

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



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

Judul

: **EVALUASI PRODUK HIDROLISIS KULIT
UDANG MENGGUNAKAN ENZIM
KITINASE FUNGI *Aspergillus nomiae*
(18A12RF) SEBAGAI AGEN
ANTIBAKTERI**

Nama

: **Alysha Mutiara Salwa**

Nomor Pokok Mahasiswa

: **2117011016**

Jurusan

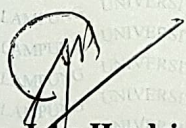
: **Kimia**

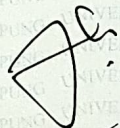
Fakultas

: **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**

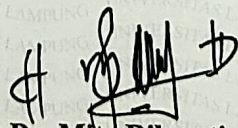


1. Komisi Pembimbing


Prof. Drs. John Hendri., M.S., Ph.D.
NIP. 195810211987031001


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

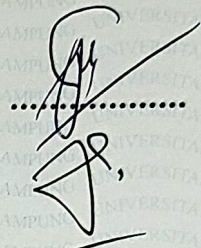
2. Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung


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

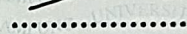
MENGESAHKAN

1. Tim penguji

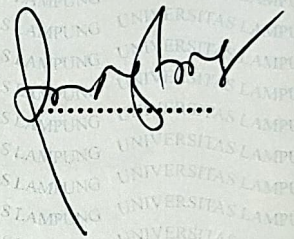
Ketua : Prof. Drs. John Hendri, M.S., Ph.D.



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

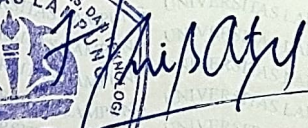


Anggota : Prof. Dr. Rudy TM Situmeang, M.Sc., Ph.D.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 20 Oktober 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Alysha Mutiara Salwa
NPM : 2117011016
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul **“Evaluasi Produk Hidrolisis Kulit Udang Menggunakan Enzim Kitinase Fungi *Aspergillus nomiae* (18A12RF) Sebagai Agen Antibakteri”** adalah benar karya saya sendiri dan saya tidak keberatan jika sebagian atau seluruh data dalam skripsi tersebut digunakan oleh dosen atau program studi untuk kepentingan publikasi sesuai dengan kesepakatan.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sadar dan sebenar-benarnya untuk digunakan sebagaimana mestinya.

Bandar Lampung, 03 November 2025

Yang Menyatakan,



Alysha Mutiara Salwa
NPM. 2117011016

RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Alysha Mutiara Salwa, lahir di Bandar Lampung pada 13 Desember 2003. Penulis merupakan anak pertama dari dua bersaudara yang berasal dari pasangan Bapak Aryono Agus Prasetyo dan Ibu Arena Septiana, penulis memiliki adik laki-laki bernama Suttan Thoriq Guritno. Penulis menyelesaikan

pendidikan Taman Kanak-Kanak di TK Al-Azhar 2 pada tahun 2009, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di SDN 2 Rawa Laut dan lulus pada tahun 2015, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama pada tahun 2015-2018 di SMP Negeri 2 Bandar Lampung dan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 5 Bandar Lampung pada tahun 2018-2021. Pada tahun 2021, penulis diterima sebagai mahasiswa Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (Unila) melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Selama masa perkuliahan, selain aktif di bidang akademik, penulis juga terlibat dalam berbagai kegiatan organisasi. Penulis bergabung dalam Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) Jurusan Kimia FMIPA Unila sebagai kader muda pada tahun 2021, kemudian menjadi anggota Bidang Sosial Masyarakat (SOSMAS) periode 2022/2023. Selama berorganisasi di Himaki, penulis berbagai kegiatan, baik sebagai peserta maupun panitia, salah satunya sebagai bendahara pelaksana dalam acara *Public Speaking* (PS) yang diselenggarakan Himaki pada tahun 2022.

Selain mengikuti organisasi, penulis juga mengikuti Bentuk Kegiatan Pembelajaran Merdeka Belajar Kampus Merdeka (BKP MBKM) Membangun Desa pada tahun 2023 di Desa Rejomulyo, Lampung Selatan selama 4 bulan. Selama 4 bulan, penulis dan tim melakukan identifikasi permasalahan di masyarakat, membantu pemerintah desa dalam merancang serta menerapkan strategi pembangunan, dan membantu mengembangkan UMKM. Penulis juga

membuat karya ilmiah yang berjudul “Proses Promosi dan Pemasaran Kerajinan Rajut di Desa Rejomulyo”.

Pada tahun 2024, penulis dan teman-teman berhasil membuat hasil karya video yang dipatenkan dengan judul “Isolasi Etil Trans-p-Metoksi Sinamat dari Rhizoma Kencur”. Pada tahun yang sama, penulis diberi amanah untuk menjadi asisten praktikum mata kuliah Kimia Dasar bagi mahasiswa Kimia angkatan 2024. Pada bulan Mei 2025, penulis menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Unit Pelaksana Analisis (UPA) Laboratorium Terpadu, Universitas Lampung dan Laboratorium Biopolimer, Universitas Lampung dengan judul “**Evaluasi Produk Hidrolisis Kulit Udang Menggunakan Enzim Kitinase Fungi *Aspergillus nomiae* (18A12RF) Sebagai Agen Antibakteri**”

MOTTO

"...Dan aku menyerahkan urusanku kepada Allah. "

"Dan Dia memberinya rezeki dari arah yang tidak disangka-sangkanya. Dan barang siapa bertawakal kepada Allah, niscaya Allah akan mencukupkan keperluannya. Sesungguhnya Allah melaksanakan urusan-Nya. Sungguh, Allah telah mengadakan ketentuan bagi setiap sesuatu."

(QS. At-Talaq: 3)

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan, sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan."

(QS. Al-Insyirah: 5-6).

"Tidak ada mimpi yang gagal, yang ada hanyalah mimpi yang tertunda. Sekiranya merasa gagal dalam mencapainya, jangan khawatir, mimpi-mimpi lain bisa diciptakan"

~Windah Basudara~

"Disaat kalian kehilangan banyak hal, janganlah bersedih. Ayo bangkit kembali dan suatu saat kalian akan menemukan jalan untuk mendapatkan semuanya kembali"

~Windah Basudara~



Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya, dengan penuh rasa syukur dan segala kerendahan hati, ku persembahkan skripsi ini sebagai wujud bakti dan tanggung jawabku kepada:

*Kedua Orang Tuaku Tercinta **Papa Aryono Agus Prasetyo** dan **Mama Arena Septiana** yang senantiasa menyayangiku tanpa batas, mengajariku, mendidikku, membimbingku, memberi dukungan dan segalanya kepadaku, serta mendo'akan untuk segala kebaikan dan kelancaran yang mengiringi setiap langkahku. Semoga Allah SWT selalu memberikan kebahagiaan, kesehatan, kemudahan, kenyamanan, kasih sayang, serta menghadiahkan Jannah-Nya, Aamiin yaa Robbal'alamin.*

*Adikku tersayang, **Suttan Thoriq Guritno** yang menemani dalam keadaan suka maupun duka dan memberikan do'a serta dukungan dalam segala hal. Semoga Allah SWT senantiasa melindungimu, menjagamu dari hal-hal buruk, memberkahimu, serta memudahkan segala urusanmu terutama dalam menggapai cita-citamu dan kesuksesan kedepannya, Aamiin yaa Robbal'alamin.*

*Pembimbing penelitianku, **Bapak Prof. Drs. John Hendri, M.S., Ph.D., dan Bapak Prof. Andi Setiawan., M.Sc., Ph.D.,** serta seluruh **Dosen Jurusan Kimia** yang telah membimbing dan memberikan banyak ilmu kepada penulis selama menjalani proses pendidikan sarjana.*

Keluarga besar, teman-teman seperjuangan, diriku sendiri, dan Almamater tercinta, Universitas Lampung.

SANWACANA

Alhamdulillahirabbil'alamin, Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini. Shalawat serta salam selalu tercurah kepada Baginda Nabi Muhammad SAW, semoga kita mendapat syafa'at-Nya di yaumil akhir nanti, aamiin yarabbal'alamin. Skripsi ini berjudul **“Evaluasi Produk Hidrolisis Kulit Udang Menggunakan Enzim Kitinase Fungi *Aspergillus nomiae* (18A12RF) Sebagai Agen Antibakteri”**, yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Sains (S.Si.) pada Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.

Penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, bantuan, saran, kritik, dan doa dari berbagai pihak. Oleh karena itu, sebagai wujud rasa hormat, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Kepada yang tercinta, pahlawan sejati dalam hidup. Papa Aryono Agus Prasetyo dan Mama Arena Septiana, terima kasih yang tak terhingga atas segala doa-doa, dukungan, serta pengorbanan yang tiada henti sejak penulis lahir, memberikan kasih sayang dan cinta untuk penulis, selalu menjadi cahaya dalam setiap kegelapan, dan kekuatan di saat penulis merasa lemah. Kepada Mama tercinta, terima kasih atas segala jerih payah, kesabaran, nasihat yang menuntun penulis, dan menjadi sumber semangat serta inspirasi dalam setiap langkah penulis.
2. Untuk adikku tersayang, Suttan Thoriq Guritno atas segala doa serta penyemangat dan pendukung yang telah menemani penulis dalam suka maupun duka di saat penulis menyelesaikan skripsi.

3. Bapak Prof. Drs. John Hendri., M.S., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing 1 atas kesabarannya dalam membimbing, memberikan arahan, motivasi, dan waktu yang diberikan untuk penulis sehingga dapat dengan lancar dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi ini.
4. Bapak Prof. Andi Setiawan., M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing 2, yang juga telah memberikan masukan dan saran yang sangat berharga dalam penyempurnaan skripsi ini.
5. Bapak Prof. Dr. Rudy TM Situmeang., M.Sc., Ph.D., selaku Dosen Penguji yang telah membimbing, memberikan ilmu, arahan, saran, dan kritik yang membangun sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.
6. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung.
7. Ibu Prof. Dr. Mita Rilyanti, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
8. Ibu Dr. Dian Herasari, M.Si., selaku Sekretaris Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
9. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Akademik, atas segala bimbingan dan masukan yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung.
10. Bapak Ibu Dosen Jurusan Kimia FMIPA Unila atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
11. Seluruh staf dan tenaga kependidikan di Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang turut membantu kelancaran proses akademik dan penelitian.
12. Kak Fendi Setiawan, S.Si., M. Si., atas bimbingan, bantuan, ilmu, motivasi, kritik, dan saran yang telah diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini dengan lancar.
13. Mbak Larasati Gadis Ermadi, S.Si., M. Si., yang selalu memberikan bantuan, ide, ilmu dan semangat, terima kasih atas kebersamaan yang berharga selama proses ini.
14. JH *Research* 2020 Kak Irfan, Kak Ester, Kak Alda, dan Kak Jordy atas bantuan dan ilmu yang diberikan kepada penulis selama masa penelitian dan penyusunan skripsi.

15. JH *Research* 2021, Sabina, Kurniawan, Nida, dan Gita yang telah menjadi *partner* diskusi sekaligus tempat berbagi tawa dan perjuangan dalam penelitian.
16. Seluruh pejuang yang menghuni UPA Laboratorium Terpadu, Mbak Rosyi, Kak Ibnu, Hasma, Sovia, Hurin, Yesha, Sefty, Fera, Isti, Riska, dan Wisnu. Terima kasih atas ilmu, dukungan, arahan, dan keceriaan yang kalian berikan.
17. Sahabat-sahabat seperjuangan tercinta “+7”, Amelia Normalita, S.Si., Azzahra Sandra S, S.Si., Rahmadina Pratiwi, S.Si., Sabina Clarissa Lang Negara, S.Si., Sefty Yustisia S, S.Si., dan Yesha Pramudita, S.Si. Terima kasih telah berjuang bersama dari awal perkuliahan hingga sekarang dan selalu ada di saat penulis merasakan kebingungan dan keresahan serta sudah rela mendengarkan curhat mengenai skripsi berkali-kali tanpa (terlalu) mengeluh dengan memberikan dukungan, arahan, masukan, dan motivasi sehingga penulis bisa kuat untuk menyelesaikan penelitian dan skripsi. Terima kasih juga atas tawa dan canda tak berujung juga selalu hadir di setiap momen sulit dan bahagia penulis.
18. Sahabat-sahabat tercinta “Ei”, Onyoy, Mewi, Sepa, Eka, Pamak, Rafi, Rama, Rasyid, dan Trio. Terima kasih atas kasih sayang, tawa, kebahagiaan, dan waktu disaat penulis merasa sedih maupun senang. Setiap permainan yang kita jalani bersama bukan hanya sekedar menghabiskan waktu, tapi menjadi momen-momen berharga yang mengukir kenangan di hati. Terima kasih karena selalu ada untuk penulis dari SMA hingga sekarang, semoga kita akan selalu bersama hingga ajal memisahkan.
19. Sahabat-sahabat tercinta “Membangun Desa Rjm”, Fildza, Trie, Nadira, Inggit, Najmi, Retno, dan Marsa yang sudah seperti saudara bagi penulis. Terima kasih atas dukungan, tawa, dan kebahagiaan yang kalian berikan pada penulis dari awal kita melaksanakan MBKM Membangun Desa hingga sekarang saat penulis menyelesaikan skripsi.
20. Sahabat-sahabat tercinta “Kisah-Kasih di SMP”, Nispus, Ameng, Yaya, Dila, Wawa, Tanisa, dan Icha atas dukungan dan cinta karena kalian adalah bukti bahwa persahabatan sejati bukan tentang seberapa sering bertemu, tapi seberapa tulus mendukung. Terima kasih karena selalu ada untuk penulis dari

SMP hingga sekarang, semoga kita akan selalu bersama hingga ajal memisahkan.

21. Rekan-rekan seperjuangan Kimia 2021 yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih atas segala kebersamaan dalam menjalani perkuliahan di kampus dari maba sampai sekarang.
22. Kimia B 2021, yang telah kebersamai penulis melewati semester demi semester selama perkuliahan.
23. Windah Basudara, terima kasih atas video-video dan kontenmu yang sangat menghibur penulis disaat senang maupun dimana kepala penuh dengan beban dan masalah sehingga penulis bisa lebih bahagia dan waras.
24. Perempuan-perempuan keren, Jang Wonyoung dan Raisa Marie, terima kasih atas inspirasi dan panutan bagi penulis untuk berubah menjadi pribadi yang kuat, teguh, memiliki pola pikir positif, memiliki motivasi kuat dalam meraih mimpi, dan mencintai diri sendiri dengan tulus.
25. Kepada diri saya sendiri Alysha Mutiara Salwa, yang bisa bertahan dan berjuang untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Terima kasih yang terdalem untuk setiap langkah yang telah kau ambil, meski jalan terasa begitu terjal dan berliku. Kau telah memilih untuk tetap melangkah ketika seluruh dunia seolah mengatakan untuk menyerah. Semoga kau selalu menjadi pribadi yang rendah hati, tidak mudah menyerah, dan kuat.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari masih banyak kekurangan, mengingat keterbatasan penulis dalam pengetahuan, kemampuan, pengalaman, dan waktu. Namun inilah yang terbaik yang dapat penulis lakukan. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Bandar Lampung, 03 November 2025
Penulis,

Alysha Mutiara Salwa

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL	iii
DAFTAR GAMBAR.....	iv
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang dan Masalah	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Fungi.....	4
2.2 Spons Laut.....	5
2.3 Kulit Udang dan Kitin	6
2.4 Enzim Kitinase	8
2.5 <i>Aspergillus</i>	9
2.6 Glukosamin dan Kitoooligosakarida	10
2.7 <i>Solid State Fermentation</i> (SSF).....	12
2.8 Antibakteri.....	12
2.9 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	14
2.10 Spektrofotometer UV-Vis	15
III. METODE PENELITIAN	17
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.3 Prosedur Penelitian.....	18
3.3.1 Biomaterial	18
3.3.2 Preparasi Kulit Udang	18
3.3.3 Pembuatan Media	18
3.3.3.1 Pembuatan PDA dan PDB.....	18
3.3.3.2 <i>Tryptic Soy Broth</i> (TSB).....	19
3.3.4 Peremajaan Isolat Fungi 18A12RF	19
3.3.5 Identifikasi Isolat Fungi 18A12RF	20
3.3.6 Kultivasi Isolat Fungi 18A12RF Secara <i>Solid State Fermentation</i> (SSF).....	20

3.3.7 Karakterisasi Hasil Fermentasi.....	20
3.3.7.1 Karakteristik Kadar Glukosamin dan Aktivitas Unit dengan Spektrofotometer UV-Vis	20
3.3.7.2 Karakteristik Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik dengan Spektrofotometer UV-Vis	21
3.3.7.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	21
3.3.8 Isolasi dan Pemurnian Enzim Kitinase.....	22
3.3.8.1 Presipitasi Protein	22
3.3.8.2 Dialisis	22
3.3.9 Pengujian Kerja Enzim Kitinase dalam Degradasi Substrat	23
3.3.10 Uji Antibakteri	23
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1 Isolat Fungi	25
4.2 Kultivasi dan Ekstraksi.....	26
4.3 Karakterisasi Hasil Fermentasi.....	29
4.3.1 Analisis Glukosamin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)	29
4.3.2 Karakterisasi Senyawa Glukosamin dan Aktivitas Unit dengan Spektrofotometer UV-Vis	30
4.3.3 Karakterisasi Senyawa Protein dan Aktivitas Spesifik dengan Spektrofotometer UV-Vis	31
4.4 Pemurnian Enzim Kitinase	32
4.5 Pengujian Kerja Enzim Kitinase dalam Degradasi Substrat	35
4.6 Uji Antibakteri.....	36
V. SIMPULAN DAN SARAN	42
5.1 Simpulan.....	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data kadar glukosamin aktivitas unit ekstrak kasar enzim kitinase.....	31
2. Data kadar protein dan aktivitas spesifik ekstrak kasar enzim kitinase	32
3. Absorbansi larutan standar glukosamin	51
4. Data absorbansi standar BSA.....	52
5. Konsentrasi Glukosamin Sebelum Pemurnian.....	53
6. Konsentrasi Glukosamin Setelah Pemurnian	53
7. Aktivitas Unit Enzim Sebelum Pemurnian	53
8. Aktivitas Unit Enzim Setelah Pemurnian	54
9. Konsentrasi protein sebelum pemurnian.....	54
10. Konsentrasi protein setelah pemurnian	54
11. Aktivitas Spesifik Enzim Kitinase Sebelum Pemurnian.....	55
12. Aktivitas Spesifik Enzim Kitinase Setelah Pemurnian	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Spons Laut.....	5
2. Kulit Udang.....	6
3. Struktur Kitin	7
4. Skema Kerja Spektrofotometri UV-Vis	15
5. Isolat Peremajaan, 18A12RF	25
6. (a) pembesaran 100x, (b) pembesaran 400x	26
7. (a) Inokulum fungi, (b) Kultivasi	27
8. Proses ekstraksi menggunakan aquades.....	28
9. KLT ekstrak kasar enzim kitinase dengan reagen ninhidrin (a) standar GlcN, (b) ekstrak kasar	30
10. Presipitasi protein dengan ammonium sulfat	33
11. Dialisis enzim kitinase	34
12. Grafik perbandingan sebelum dan sesudah pemurnian enzim kitinase (a) sebelum pemurnian dan (b) setelah pemurnian	34
13. Hasil degradasi substrat oleh enzim kitinase (a) menit awal, (b) 2 jam, (c) 4 jam, (d) 6 jam, (e) 8 jam	36
14. Uji Antibakteri terhadap Staphylococcus aureus	38
15. Uji antibakteri terhadap Pseudomonas aeruginosa	38
16. Uji KLT sampel terbaik (a) standar GlcN, (b) sampel 8 jam.....	40
17. Kurva Standar Glukosamin	51
18. Kurva Standar BSA.....	52

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang dan Masalah

Udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan banyak diekspor ke berbagai negara. Sektor pengolahan udang memainkan peran krusial dalam global dengan tingkat produksi mencapai 4,5 juta ton di tahun 2018 (FAO, 2020). Meskipun demikian, industri ini juga menghadapi tantangan berupa produksi limbah yang signifikan, khususnya kulit udang yang jumlahnya 50-75% dari total berat udang. Ketika penanganan limbah kulit udang tidak ditangani dengan baik maka limbah kulit udang dapat mengakibatkan dampak negatif terhadap lingkungan serta menimbulkan aroma tidak menyenangkan (Hamed *et al.*, 2016). Limbah yang terdiri dari kepala, kulit, ekor, dan kaki udang terkandung senyawa kitin yang melimpah, dimana kitin merupakan biopolimer alami kedua terbanyak setelah selulosa. Kitin memiliki struktur kimia yang terdiri dari unit N-asetil-D-glukosamin yang terhubung melalui ikatan β -1,4-glikosidik (Younes *and* Rinaudo, 2015).

Salah satu metode yang efektif untuk memanfaatkan limbah kulit udang melalui hidrolisis enzimatis menggunakan enzim kitinase. Hidrolisis enzimatis termasuk metode yang menjanjikan untuk mengkonversi kitin menjadi produk turunan, seperti glukosamin dan kitooligosakarida. Kitinase merupakan enzim yang mampu memecah ikatan β -1,4-glikosidik pada kitin menghasilkan glukosamin dan kitooligosakarida dengan berbagai panjang rantai (Riska dkk., 2024). Dalam kelompok fungi, genus *Aspergillus* telah dikenal luas sebagai produsen kitinase yang unggul. Salah satu spesies dari genus ini, *Aspergillus nomiae* menjadi fokus penelitian ini karena kemampuannya menghasilkan kitinase dengan efektivitas

tinggi. Salah satu aspek menarik dari produk hidrolisis kitin adalah potensi aktivitas antibakterinya. Kitoooligosakarida memiliki berbagai peran penting dalam uji antibakteri. Beberapa penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa kitoooligosakarida dan turunan kitin lainnya memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai jenis mikroorganisme patogen, seperti bakteri gram positif dan gram negatif (Zhang *et al.*, 2024). Aktivitas antibakteri ini diduga berasal dari interaksi antara gugus amino bebas pada kitoooligosakarida dengan koazmponen membran sel mikroba, yang dapat menyebabkan gangguan pada integritas membran sel dan akhirnya menyebabkan kematian sel mikroba (Fan *et al.*, 2025). Dalam konteks ini, uji aktivitas antibakteri terhadap produk hidrolisis kulit udang menggunakan enzim kitinase dari *Aspergillus nomiae* (18A12RF) menjadi sangat relevan dan penting.

Dalam penelitian ini, fungi 18A12RF didapatkan dari koleksi Unit Pelaksana Analisis Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPA-LTSIT) Universitas Lampung yang berasal dari daerah Singaraja, Buleleng, Bali, Indonesia (8°07'07.6"LS 114°33'38.9"BT) (Setiawan *et al.*, 2021), fungi 18A12RF kemudian diremajakan pada media PDA dan diinkubasi selama 4 hari. Selanjutnya, isolat fungi diinokulum pada media PDB dan dikultivasi pada media kulit udang menggunakan teknik *Solid State Fermentation* (SSF) mengacu pada metode Setiawan, *et al* (2021). Ekstraksi hasil fermentasi dilaksanakan melalui proses perendaman dalam akuades. Untuk menganalisis produk degradasi kitin, teknik Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dielusi dengan menggunakan campuran amonia, alkohol isopropil, dan akuades sebagai fase gerak. Prosedur KLT ini bertujuan untuk mengukur jumlah D-glukosamin, mengikuti protokol yang ditetapkan oleh Martosuyono *et al.* (2014). Proses pemurnian enzim kitinase dan evaluasi aktivitas antibakterinya mengacu pada prosedur yang diuraikan oleh El-Beltagi *et al.* (2022). Enzim diisolasi melalui penambahan 60% amonium sulfat terlarut, dilanjutkan dengan dialisis menggunakan larutan penyangga fosfat (pH 7, konsentrasi 50 mM). Setelah enzim dimurnikan, dilakukan hidrolisis kitin dalam kulit udang selama 8 jam dengan interval waktu panen 1 jam; 2 jam; 4 jam; 6 jam; 8 jam untuk mendapatkan turunannya seperti kitoooligosakarida (COS). Pengujian

antibakteri dilakukan dengan metode *Microtiter Assay* mengacu pada Elshikh *et al.*, (2016) terhadap bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram-negatif *Pseudomonas aeruginosa*. Diharapkan hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai model untuk mendapatkan enzim kitinase sebagai media hidrolisis kitin menjadi COS sebagai agen antibakteri.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Menghasilkan ekstrak enzim kitinase melalui proses fermentasi secara SSF menggunakan isolat fungi 18A12RF.
2. Mengevaluasi hasil produk turunan kitin berupa COS sebagai agen antibakteri.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan informasi baru mengenai produk hasil hidrolisis kulit udang menggunakan enzim kitinase dari *Aspergillus nomiae* (18A12RF) berupa COS yang berpotensi sebagai agen antibakteri.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Fungi

Fungi merupakan kingdom yang unik dan beragam dalam klasifikasi makhluk hidup juga memiliki karakteristik yang membedakannya dari organisme lain. Fungi tidak memiliki klorofil dan tidak melakukan fotosintesis sehingga mereka bergantung pada penyerapan nutrisi dari lingkungan sekitarnya. Struktur dasar fungi terdiri dari hifa yang membentuk jaringan kompleks bernama miselium dengan dinding sel yang umumnya mengandung kitin (Corneliyawati *et al.*, 2018).

Fungi memiliki kemampuan reproduksi yang fleksibel, dapat bereproduksi secara seksual maupun aseksual. Reproduksi aseksual umumnya terjadi melalui pembentukan spora, fragmentasi hifa, atau pembentukan struktur khusus seperti konidia, sementara reproduksi seksual melibatkan peleburan sel-sel haploid untuk membentuk zigot diploid yang kemudian menghasilkan spora seksual melalui meiosis. Keragaman dalam strategi reproduksi ini berkontribusi pada kemampuan adaptasi fungi yang tinggi di berbagai lingkungan. Peran ekologis fungi sangat signifikan dalam ekosistem. Mereka berfungsi sebagai dekomposer utama, menguraikan materi organik, dan memfasilitasi siklus nutrisi. Banyak fungi juga membentuk hubungan simbiosis yang penting, seperti mikoriza dengan akar tumbuhan atau liken dengan alga. Simbiosis ini tidak hanya menguntungkan organisme yang terlibat tetapi juga berdampak luas pada kesehatan ekosistem secara keseluruhan meiosis (Moore *et al.*, 2022).

2.2 Spons Laut

Spons laut merupakan organisme multiseluler primitif yang termasuk dalam filum Porifera. Hewan invertebrata ini telah menjadi subjek penelitian yang menarik dalam berbagai bidang ilmu, terutama dalam eksplorasi senyawa bioaktif alami. Spons laut telah mendiami perairan bumi selama lebih dari 600 juta tahun, berkembang menjadi salah satu kelompok hewan laut yang paling beragam dan tersebar luas di ekosistem perairan dangkal hingga laut dalam (Ayer dkk., 2024).

Keunikan spons laut terletak pada kemampuannya untuk menghasilkan berbagai senyawa kimia kompleks sebagai mekanisme pertahanan diri terhadap predator, kompetitor, dan patogen. Senyawa-senyawa ini seringkali memiliki struktur molekul yang unik dan aktivitas biologis yang kuat, menjadikan spons laut sebagai sumber yang kaya akan senyawa bioaktif potensial untuk pengembangan obat-obatan baru (Adewal dkk., 2025). Beberapa senyawa yang diisolasi dari spons laut telah menunjukkan aktivitas antikanker, antimikroba, antivirus, dan antibakteri yang menjanjikan (Ayer dkk., 2024).



Gambar 1. Spons Laut

Dalam konteks ekologi, spons laut memainkan peran penting dalam ekosistem terumbu karang. Mereka berfungsi sebagai biofilter alami, menyaring air laut dan mengonsumsi partikel organik dan mikroorganisme, sehingga berkontribusi pada siklus nutrisi dan pemeliharaan kualitas air. Selain itu, struktur fisik spons sering kali menyediakan habitat bagi berbagai organisme laut kecil, meningkatkan kompleksitas dan biodiversitas ekosistem terumbu karang (Bell *et al.*, 2015).

2.3 Kulit Udang dan Kitin

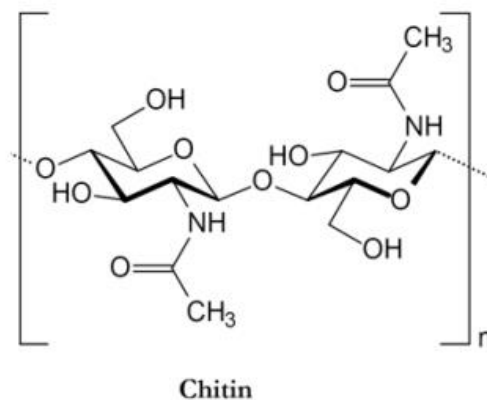
Udang merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai ekonomis yang tinggi dan banyak diekspor ke berbagai negara. Sektor pengolahan udang memainkan peran krusial dalam global dengan tingkat produksi mencapai 4,5 juta ton di tahun 2018 (FAO, 2020). Meskipun demikian, industri ini juga menghadapi tantangan berupa produksi limbah yang signifikan, khususnya kulit udang yang jumlahnya 50-75% dari total berat udang. Ketika penanganan limbah kulit udang tidak ditangani dengan baik maka limbah kulit udang dapat mengakibatkan dampak negatif terhadap lingkungan serta menimbulkan aroma tidak menyenangkan (Hamed *et al.*, 2016). Komposisi kimia kulit udang terutama terdiri dari protein (25–44%), mineral (45–50%), kitin (20–30%), serta komponen lain berupa lemak dan protein terlarut sebesar 19,4% (Choiriyah dkk., 2025)



Gambar 2. Kulit Udang

Kitin termasuk komponen utama dalam kulit udang, adalah biopolimer linear yang terdiri dari unit N-asetil-D-glukosamin yang terhubung melalui ikatan β -(1,4)-glikosidik. Kitin merupakan polisakarida terbanyak kedua di alam setelah selulosa dan memiliki struktur yang mirip dengan selulosa, namun dengan gugus asetamida menggantikan gugus hidroksil pada posisi C-2 (Younes *and* Rinaudo, 2015). Keberadaan kitin dalam jumlah besar pada kulit udang menjadikannya sumber daya yang berharga untuk produksi kitin dan turunannya, terutama kitosan dan kitooligosakarida (COS).

Ekstraksi kitin dari kulit udang umumnya melibatkan serangkaian proses yang terdiri dari deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilasi. Metode ekstraksi konvensional menggunakan bahan kimia seperti natrium hidroksida untuk deproteinasi dan asam hidroklorida untuk demineralisasi. Namun, pendekatan yang lebih ramah lingkungan telah dikembangkan, termasuk metode biologis menggunakan fermentasi mikroba atau enzim proteolitik untuk deproteinasi (Risqi dkk., 2025).



Gambar 3. Struktur Kitin (Hamed *et al.*, 2016)

Kitin yang diekstrak dari kulit udang dapat diproses lebih lanjut menjadi kitosan melalui deasetilasi parsial dalam kondisi alkali. Kitosan, polimer kationik dengan sifat unik seperti biokompatibilitas, biodegradabilitas, dan aktivitas antimikroba, memiliki aplikasi luas dalam berbagai industri termasuk biomedis, pangan, dan pengolahan air.

Pemanfaatan kulit udang sebagai sumber kitin dan turunannya telah menarik perhatian besar dalam konteks ekonomi sirkular dan pengurangan limbah. Transformasi limbah kulit udang menjadi produk bernilai tinggi tidak hanya memberikan keuntungan ekonomi tetapi juga berkontribusi pada pengelolaan limbah yang berkelanjutan dalam industri perikanan (FAO, 2020).

2.4 Enzim Kitinase

Enzim kitinase merupakan kelompok enzim hidrolitik yang memainkan peran penting dalam degradasi kitin, suatu biopolimer yang tersusun dari unit N-asetilglukosamin yang terhubung melalui ikatan β -1,4-glikosidik. Kitinase termasuk dalam keluarga enzim glikosil hidrolase dan mampu memecah ikatan glikosidik dalam struktur kitin, menghasilkan oligosakarida dengan panjang rantai yang bervariasi hingga monomer N-asetilglukosamin (Maggadani dkk., 2017).

Berdasarkan mekanisme katalitiknya, kitinase dapat diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama: endokitinase dan eksokitinase. Endokitinase memecah ikatan glikosidik secara acak di sepanjang rantai kitin, menghasilkan oligomer dengan panjang yang bervariasi. Sementara itu, eksokitinase, yang juga dikenal sebagai kitobiosidase, memecah kitin dari ujung non-pereduksi, menghasilkan dimer N-asetilglukosamin (kitobiosa) sebagai produk utama (Oyeleye *and* Normi, 2018). Selain itu, N-asetilglukosaminidase, yang terkadang diklasifikasikan sebagai bagian dari sistem kitinolitik, bertanggung jawab untuk memecah kitobiosa dan kitooligosakarida pendek menjadi monomer N-asetilglukosamin.

Struktur dan mekanisme katalitik kitinase telah menjadi subjek penelitian intensif. Kebanyakan kitinase memiliki struktur multi-domain yang terdiri dari domain katalitik dan satu atau lebih domain pengikat kitin (*chitin-binding domain*, CBD). Domain katalitik bertanggung jawab untuk aktivitas hidrolisis, sementara CBD memfasilitasi pengikatan enzim ke substrat kitin, meningkatkan efisiensi katalitik terutama pada substrat yang tidak larut. Mekanisme katalitik kitinase umumnya melibatkan retensi atau inversi konfigurasi anomerik pada atom karbon anomerik, tergantung pada jenis kitinase (Wang *et al.*, 2022).

Sumber kitinase sangat beragam di alam. Dalam mikroorganisme, produksi kitinase sering dikaitkan dengan kemampuan untuk memanfaatkan kitin sebagai sumber karbon dan nitrogen. Di antara fungi, genera seperti *Trichoderma*, *Aspergillus*, dan *Penicillium* telah banyak dipelajari karena kemampuan mereka menghasilkan kitinase (Hartl *et al.*, 2012). Kitinase tanaman, di sisi lain, sering

dikaitkan dengan mekanisme pertahanan terhadap patogen fungi, dan telah diisolasi dari berbagai spesies tanaman termasuk padi, jagung, dan tembakau (Grover, 2012).

Regulasi produksi kitinase dalam mikroorganisme melibatkan berbagai faktor lingkungan dan genetik. Induksi enzim ini sering dipengaruhi oleh keberadaan kitin atau turunannya dalam media pertumbuhan. Selain itu, faktor-faktor seperti pH, suhu, sumber karbon dan nitrogen, serta kondisi aerasi juga mempengaruhi produksi kitinase. Pada tingkat molekuler, ekspresi gen kitinase diatur oleh berbagai faktor transkripsi dan sistem regulasi, yang bervariasi tergantung pada organisme produsen.

2.5 *Aspergillus*

Aspergillus merupakan genus jamur berfilamen yang tersebar luas di alam dan memiliki peran penting dalam berbagai aspek kehidupan manusia (Samson *et al.*, 2014). Genus ini mencakup lebih dari 350 spesies yang telah diidentifikasi, dengan beberapa di antaranya memiliki dampak signifikan terhadap kesehatan manusia, pertanian, dan industri (Paulussen *et al.*, 2017). *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*, dan *Aspergillus niger* adalah beberapa spesies yang paling sering ditemui dan dipelajari karena relevansinya dalam konteks medis dan ekonomi (Latgé and Chamilos, 2020).

Dalam bidang kesehatan, *Aspergillus* dikenal sebagai patogen oportunistik yang dapat menyebabkan berbagai infeksi pada manusia, terutama pada individu dengan sistem kekebalan yang lemah (Latgé and Chamilos, 2020). Aspergilosis invasif, yang paling sering disebabkan oleh *Aspergillus fumigatus*, merupakan infeksi serius yang dapat mengancam jiwa pada pasien immunocompromised (Kosmidis and Denning, 2015). Selain itu, beberapa spesies *Aspergillus* juga dapat menghasilkan mikotoksin, seperti aflatoksin yang dihasilkan oleh *Aspergillus flavus*, yang memiliki sifat karsinogenik dan dapat mengontaminasi produk pertanian (Latgé and Chamilos, 2020).

Di sisi lain, *Aspergillus* juga memiliki peran penting dalam industri bioteknologi dan pangan. *Aspergillus niger*, misalnya, telah lama digunakan dalam produksi asam sitrat dan berbagai enzim industri (Show *et al.*, 2015). Kemampuan *Aspergillus* untuk menghasilkan metabolit sekunder yang beragam juga menjadikannya sumber potensial untuk penemuan senyawa bioaktif baru dalam industri farmasi (Frisvad *et al.*, 2018).

Dalam konteks lingkungan, *Aspergillus* berperan penting dalam siklus biogeokimia dan degradasi bahan organik. Namun, keberadaan *Aspergillus* dalam jumlah berlebih di lingkungan dalam ruangan dapat menyebabkan masalah kesehatan, terutama bagi individu yang rentan terhadap alergi atau infeksi jamur. Penelitian terkini mengenai *Aspergillus* berfokus pada berbagai aspek, termasuk mekanisme patogenesis, resistensi antijamur, aplikasi bioteknologi, dan strategi pengendalian dalam konteks kesehatan masyarakat dan keamanan pangan (Paulussen *et al.*, 2017).

2.6 Glukosamin dan Kitoooligosakarida

Glukosamin ($C_6H_{13}NO_5$) dengan nama IUPAC 2-amino-2-deoksi-D-glukosa merupakan gula yang mengandung amina yang diperoleh dari hidrolisis kitin. Glukosamin dapat diproduksi melalui hidrolisis asam atau enzimatis dari kitin yang diperoleh dari limbah industri seafood, terutama cangkang kepiting, udang, dan lobster. Proses hidrolisis asam menggunakan asam klorida pekat pada suhu tinggi untuk memecah ikatan glikosidik kitin dan menghilangkan gugus asetil, menghasilkan glukosamin hidroklorida sebagai produk utama. Metode enzimatis menggunakan enzim kitinase dan kitosanase menawarkan alternatif yang lebih ramah lingkungan dengan kondisi reaksi yang lebih ringan dan selektivitas yang lebih tinggi. Produksi glukosamin melalui fermentasi mikroba juga telah dikembangkan menggunakan strain bakteri dan fungi yang dimodifikasi secara genetik untuk mengekspresikan enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme kitin (Hardoko *et al.*, 2017).

Kitoooligosakarida (COS) merupakan oligomer dari N-asetil-D-glukosamin yang dihasilkan dari hidrolisis parsial kitin, suatu biopolimer yang melimpah di alam dan ditemukan terutama pada eksoskeleton krustasea, serangga, dan dinding sel fungi. Struktur kimia COS ditandai oleh rantai linear unit N-asetil-D-glukosamin yang terhubung melalui ikatan β -(1,4)-glikosidik, dengan derajat polimerisasi (DP) berkisar antara 2 hingga 20 unit monomer. Karakteristik penting lainnya dari COS adalah derajat deasetilasi (DD), yang menentukan jumlah gugus amino bebas dalam molekul dan sangat mempengaruhi sifat bioaktifnya. Variasi dalam DP dan DD menghasilkan spektrum COS yang luas dengan sifat fisikokimia dan biologis yang berbeda-beda, memungkinkan pengembangan aplikasi yang disesuaikan untuk berbagai kebutuhan (Aam *et al.*, 2010).

Produksi COS dapat dilakukan melalui berbagai metode, namun pendekatan yang paling umum melibatkan hidrolisis enzimatis kitin menggunakan enzim kitinase atau kitosanase. Metode enzimatis ini lebih disukai karena kemampuannya menghasilkan COS dengan karakteristik yang lebih terkontrol dan ramah lingkungan dibandingkan metode hidrolisis kimia (Hamed *et al.*, 2016). Sumber enzim kitinolitik yang beragam telah dieksplorasi, termasuk dari bakteri, fungi, tanaman, dan hewan, dengan masing-masing sumber menunjukkan spesifisitas dan efisiensi yang berbeda dalam produksi COS (Hamid *et al.*, 2013).

Salah satu sifat bioaktif COS yang paling banyak dipelajari adalah aktivitas antimikrobanya. COS telah terbukti efektif melawan berbagai patogen, termasuk bakteri gram-positif dan gram-negatif, serta beberapa jenis fungi. Mekanisme antimikroba COS melibatkan interaksi elektrostatik antara gugus amino yang bermuatan positif pada COS dengan komponen dinding sel mikroba yang bermuatan negatif, yang mengakibatkan gangguan integritas membran dan kematian sel (Fan *et al.*, 2025). Efektivitas antimikroba COS dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk DP, DD, dan kondisi lingkungan seperti pH dan kekuatan ionik (Younes and Rinaudo, 2015).

2.7 *Solid State Fermentation (SSF)*

Solid State Fermentation (SSF) atau fermentasi padat adalah proses biokonversi yang melibatkan pertumbuhan mikroorganisme pada substrat padat dalam kondisi absen atau hampir absen cairan bebas (Wang *et al.*, 2023). Teknik ini telah digunakan sejak zaman kuno dalam pembuatan makanan fermentasi tradisional, namun dalam beberapa dekade terakhir telah mengalami kebangkitan minat dalam aplikasi bioteknologi modern. SSF memiliki keunggulan dibandingkan fermentasi cair (*Submerged Fermentation*) dalam hal produktivitas yang lebih tinggi, konsumsi energi yang lebih rendah, dan menghasilkan limbah cair yang lebih sedikit (Thomas *et al.*, 2013).

Prinsip dasar SSF melibatkan pertumbuhan mikroorganisme, terutama fungi filamen, pada partikel substrat padat yang berfungsi sebagai sumber nutrisi dan penunjang fisik. Substrat yang umum digunakan dalam SSF termasuk produk pertanian dan residu agroindustri seperti dedak gandum, ampas tebu, kulit buah-buahan, dan berbagai limbah lignoselulosa lainnya. Kelembaban substrat dalam SSF biasanya berkisar antara 40% hingga 80%, cukup untuk mendukung pertumbuhan mikroba tetapi tidak cukup untuk membentuk fase cair bebas yang signifikan. Mikroorganisme yang paling sering digunakan dalam SSF adalah fungi filamen, terutama dari genera *Aspergillus*, *Penicillium*, dan *Trichoderma*, karena kemampuan mereka untuk tumbuh pada substrat padat dengan kadar air rendah dan menghasilkan berbagai enzim ekstraseluler. Namun, bakteri dan ragi juga telah berhasil digunakan dalam beberapa aplikasi SSF (Sellyna *et al.*, 2020).

2.8 Antibakteri

Antibakteri didefinisikan sebagai substansi yang memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Penemuan dan pengembangan antibakteri telah secara signifikan mengubah paradigma pengobatan infeksi

bakteri, menyelamatkan jutaan nyawa sejak penemuan penisilin oleh Alexander Fleming pada tahun 1928 (Aminov, 2010).

Mekanisme kerja antibakteri sangat beragam, mencakup inhibisi sintesis dinding sel, gangguan fungsi membran sel, inhibisi sintesis protein, interferensi dengan sintesis asam nukleat, dan penghambatan jalur metabolisme bakteri (Kohanski *et al.*, 2010). Pemahaman mendalam tentang mekanisme ini tidak hanya penting untuk pengembangan antibakteri baru tetapi juga untuk mengatasi masalah resistensi antibiotik yang semakin mengkhawatirkan.

Klasifikasi antibakteri dapat dilakukan berdasarkan beberapa kriteria, termasuk spektrum aktivitas (spektrum luas atau sempit), mekanisme kerja, struktur kimia, dan asal-usulnya (alami atau sintesis). Antibakteri spektrum luas, seperti tetrasiklin dan kloramfenikol, efektif melawan berbagai jenis bakteri, sementara antibakteri spektrum sempit, seperti penisilin G, lebih spesifik terhadap kelompok bakteri tertentu. Pemilihan antibakteri yang tepat sangat penting dalam praktik klinis untuk memastikan efektivitas pengobatan dan meminimalkan risiko resistensi.

Resistensi antibakteri telah menjadi ancaman global yang serius terhadap kesehatan masyarakat. Penggunaan antibiotik yang tidak tepat dan berlebihan telah mempercepat evolusi strain bakteri yang resisten terhadap berbagai jenis antibiotik (Ventola, 2015). Fenomena ini mendorong penelitian intensif untuk menemukan strategi baru dalam mengatasi infeksi bakteri, termasuk pengembangan antibakteri dengan mekanisme kerja baru, kombinasi antibiotik, dan pendekatan alternatif seperti terapi fag dan imunomodulasi (Wright, 2014).

Penelitian terkini dalam bidang antibakteri fokus pada beberapa area utama. Pertama, eksplorasi sumber baru antibakteri, termasuk senyawa alami dari organisme laut, tanaman obat, dan mikroorganisme ekstremofil (Moloney, 2016). Kedua, pengembangan antibakteri sintesis dengan desain rasional berdasarkan pemahaman mekanistik interaksi obat-target (Silver, 2011). Ketiga, pendekatan inovatif seperti penggunaan nanopartikel sebagai pembawa antibakteri atau sebagai agen antibakteri itu sendiri (Huh *and* Kwon, 2011).

2.9 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik analisis yang telah lama digunakan dan terus berkembang dalam berbagai bidang penelitian kimia, farmasi, dan biologi. KLT menawarkan keunggulan berupa kesederhanaan, kecepatan, dan efektivitas biaya dalam pemisahan dan identifikasi senyawa. Prinsip dasar KLT melibatkan pemisahan komponen dalam sampel berdasarkan perbedaan kepolaran dan interaksi dengan fase diam dan fase gerak. Fase diam biasanya berupa lapisan tipis silika gel atau alumina yang dilapiskan pada plat kaca atau aluminium, sedangkan fase gerak atau eluen terdiri dari satu atau campuran pelarut. Pemilihan fase gerak yang tepat sangat penting untuk mencapai pemisahan yang optimal dan sering kali memerlukan optimasi berdasarkan sifat kimia sampel yang dianalisis (Forestryana dan Arnida, 2020).

Salah satu parameter kunci dalam analisis KLT adalah nilai R_f (*Retardation factor* atau faktor retensi). Nilai R_f didefinisikan sebagai rasio jarak yang ditempuh oleh senyawa terhadap jarak yang ditempuh oleh pelarut dari titik awal. Secara matematis, R_f dapat dinyatakan sebagai:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

Nilai R_f berkisar antara 0 dan 1, di mana nilai 0 menunjukkan bahwa senyawa tetap berada pada titik awal, sedangkan nilai 1 menunjukkan bahwa senyawa bergerak sejauh pelarut. Nilai R_f dinyatakan hingga angka 1,0. Nilai R_f yang baik menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2 - 0,8. Nilai R_f sangat berguna dalam identifikasi senyawa, karena setiap senyawa memiliki nilai R_f yang karakteristik dalam sistem pelarut tertentu (Kamar *et al.*, 2021).

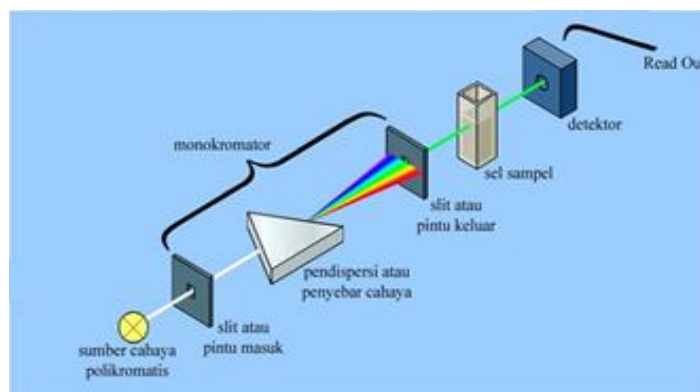
Faktor-faktor yang mempengaruhi nilai R_f meliputi sifat fase diam, komposisi fase gerak, ketebalan lapisan fase diam, suhu, dan kelembaban (Charismawati *et al.*, 2021). Oleh karena itu, penting untuk mempertahankan kondisi yang konsisten saat melakukan analisis KLT untuk memastikan reproduktibilitas nilai R_f . Penggunaan standar internal atau eksternal dapat membantu dalam normalisasi nilai R_f antar percobaan. Dalam perkembangannya, KLT telah mengalami

berbagai modifikasi dan peningkatan. KLT kinerja tinggi (HPTLC) menawarkan resolusi dan sensitivitas yang lebih baik dibandingkan KLT konvensional, menggunakan partikel fase diam yang lebih kecil dan seragam, serta instrumentasi yang lebih canggih untuk aplikasi sampel dan deteksi. HPTLC memungkinkan pengukuran nilai R_f yang lebih presisi dan reproduktibel, meningkatkan keandalan identifikasi senyawa.

Aplikasi KLT dan penggunaan nilai R_f sangat luas dalam berbagai bidang. Dalam farmasi, KLT digunakan untuk analisis obat-obatan, identifikasi senyawa aktif dalam ekstrak tanaman, dan pemantauan kemurnian senyawa. Dalam studi lingkungan, KLT diaplikasikan untuk deteksi dan kuantifikasi berbagai polutan organik (Kamar *et al.*, 2021).

2.10 Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu metode analisis yang banyak digunakan dalam penelitian kimia untuk analisis kualitatif dan kuantitatif senyawa organik maupun anorganik. Metode ini didasarkan pada pengukuran panjang gelombang dan intensitas cahaya ultraviolet dan cahaya tampak yang diserap oleh sampel. Prinsip dasarnya melibatkan paparan sampel terhadap radiasi UV pada panjang gelombang 180-380 nm atau cahaya tampak pada panjang gelombang 380-780 nm. Penyerapan radiasi ini menyebabkan promosi elektron dari keadaan dasar ke keadaan tereksitasi dalam gugus fungsi yang disebut kromofor.



Gambar 4. Skema Kerja Spektrofotometri UV-Vis (Mubarok, 2021)

Data absorpsi yang dihasilkan oleh spektrofotometer UV-Vis berupa transmitansi atau absorbansi yang dapat dibaca sebagai spektrum UV-Vis. Eksitasi elektron yang terjadi dalam spektrofotometri UV-Vis dicatat dalam bentuk spektrum yang dinyatakan sebagai panjang gelombang dan absorbansi, sesuai dengan jenis elektron yang ada dalam molekul yang dianalisis. Semakin mudah elektron tereksitasi, semakin besar panjang gelombang yang diserap, dan semakin banyak elektron yang tereksitasi, semakin tinggi absorbansinya (Mubarok, 2021).

Spektrofotometri UV-Vis dapat digunakan untuk menganalisis sampel dalam bentuk larutan, gas, atau uap. Sampel harus diubah menjadi larutan jernih dengan memperhatikan beberapa persyaratan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat melarutkan sampel secara sempurna, tidak mengandung ikatan rangkap terkonjugasi, tidak berwarna, tidak berinteraksi dengan molekul senyawa yang dianalisis, dan memiliki kemurnian tinggi (Pratiwi *and* Nandiyanto, 2022).

III.METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari Oktober 2024 sampai dengan Mei 2025 di Unit Pelaksana Analisis (UPA) Laboratorium Terpadu Universitas Lampung dan Laboratorium Biopolimer FMIPA Universitas Lampung. Analisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Universitas Lampung.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi Spektrofotometer UV-Vis, mikroskop Cahaya axio Zeiss A1, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat alumunium silika gel DC Kielsel 60 F254, *Centrifuge* Hitachi CF 16RX II, inkubator Kaltis 499, oven jisico, *autoclave* Tomy SX-700, *Laminar Air Flow* (LAF), *refrigerator*, neraca analitik Wigen Houser, *hot plate stirrer* Thermolyne, mikropipet, pipet tetes, beaker glass, gelas ukur, labu Erlenmeyer, batang pengaduk, tabung reaksi, corong kaca, cawan petri, spatula logam, tabung ependorf, well plate 96, pipa kapiler, cover slip, jarum ose, pinset, gunting, cutter, karet gelang, spidol, dan pembakar spiritus.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi limbah kulit udang, akuades, artificial sea water, alkohol 70%, agar-agar swallow, koloid kitin, HCl pekat, mikroba 18A12RF, *Tryptic Soya Broth* (TSB), *Tryptic Soya Agar* (TSA),

metanol (MeOH) teknis, reagen *dinitrosalicylic acid* (DNS), 2% Na₂CO₃ dalam NaOH 2%, 5 mL CuSO₄·5H₂O 1%, 3 mL Na/K tartrat 1%, pereaksi lowry folin *ciocalteu*, ninhydrin 2% (ninhydrin dalam pelarut EtOH), ammonium sulfat 60%, aquades steril, BaCl₂, buffer fosfat (pH 7 dalam 50 mL), dan *Ciprofloxacin*.

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Biomaterial

Fungi *Aspergillus nomiae*, bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari koleksi Unit Pelaksana Teknis Laboratorium Terpadu Sentra Inovasi dan Teknologi (UPT-LTSIT) Universitas Lampung. Sampel fungi tersebut berasal dari spons laut yang didapatkan dari daerah Singaraja, Buleleng, Bali, Indonesia (8°07'07.6"LS 114°33'38.9"BT) (Setiawan *et al.*, 2021).

3.3.2 Preparasi Kulit Udang

Limbah kulit udang yang digunakan dikumpulkan dari Pasar Gudang Lelang, Teluk Betung, Bandar Lampung. Kulit udang dipisahkan dari daging dan kotoran lalu dicuci dengan air keran untuk menghilangkan kotoran pasir atau lumpur. Kulit udang yang sudah bersih kemudian dikeringkan selama 24 jam dalam oven pada suhu 60 °C. Selanjutnya, kulit udang kering digiling menggunakan blender menjadi serbuk kasar. Kemudian kulit udang dibilas kembali menggunakan NaOH sampai pH 9 dan diperas hingga kering.

3.3.3 Pembuatan Media

3.3.3.1 Pembuatan *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan *Potato Dextrose Broth* (PDB)

Pembuatan media berdasarkan Jamilatun *et al.* (2020) dimulai dengan mengupas kentang segar sebanyak 10 gram, dibersihkan, dan dipotong berbentuk dadu.

Potongan kentang direbus dalam 100 mL air laut dengan salinitas 30 ppt hingga mencapai titik didih. Setelah perebusan, air hasil rebusan kentang disaring untuk memisahkan padatan dan filtrat. Selanjutnya, penambahan 2 gram glukosa ke dalam filtrat kentang sebagai sumber karbon utama bagi pertumbuhan mikroorganisme. Perbedaan utama antara PDA dan PDB terletak pada penambahan agar. Untuk media PDA, 3 gram agar ditambahkan ke dalam campuran yang akan memberikan konsistensi padat pada media setelah pendinginan. Sebaliknya, media PDB tidak memerlukan penambahan agar, menghasilkan media cair yang cocok untuk kultur fungi dalam suspensi. Media yang telah disiapkan kemudian disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 2 jam.

3.3.3.2 Tryptic Soy Broth (TSB)

Pembuatan TSB dilakukan mengacu pada Laila *et al.* (2023) pembuatan larutan 3% TSB dengan pelarut akuades, 3 gram TSB dilarutkan dalam 100 mL bahan yang sudah homogen disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. TSB digunakan untuk inokulum pertumbuhan bakteri patogen dalam pembuatan media untuk agar difusi.

3.3.4 Peremajaan Isolat Fungi 18A12RF

Peremajaan isolat fungi 18A12RF dilakukan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Proses ini dimulai dengan persiapan media PDA steril yang sebelumnya telah dibuat seperti pada Prosedur 3.3.3.1 lalu media dituang pada cawan petri yang sudah disterilkan melalui penyemprotan alkohol dan paparan sinar UV dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) selama 15 menit untuk memastikan kondisi aseptis. Selanjutnya, isolat fungi diambil dari kultur stok menggunakan jarum ose steril kemudian diinokulasikan pada media PDA. Cawan petri yang berisi isolat fungi diinkubasi selama 4 hari hingga terlihat hifa pada permukaan

media agar. Selama masa inkubasi, cawan petri diletakkan dalam posisi terbalik untuk mencegah tetesan kondensasi jatuh ke permukaan media.

3.3.5 Identifikasi Isolat Fungi 18A12RF

Pada penelitian ini, identifikasi isolat fungi 18A12RF menggunakan teknik *cover slip* dilakukan berdasarkan (Whitman *et al.*, 2012). Diawali dengan menancapkan 3 buah *cover slip* pada media agar dengan sudut kemiringan 45° kemudian isolat fungi digoreskan di dekat *cover slip* tersebut dan diinkubasi selama 4 hari. Setelah periode inkubasi, *cover slip* yang telah ditumbuhi fungi dipindahkan ke kaca preparat untuk pengamatan mikroskopis. Penggunaan mikroskop cahaya Axio Zeiss A1 dengan perbesaran 100x memungkinkan visualisasi detail struktur fungi, terutama bentuk dan karakteristik spora.

3.3.6 Kultivasi Isolat Fungi 18A12RF Secara *Solid State Fermentation* (SSF)

Mula-mula dibuat inokulum fungi selama 4 hari pada media PDB seperti pada Prosedur 3.3.3.1. Kemudian diinokulasi pada media kulit udang steril yang ditempatkan secara merata di dasar Erlenmeyer 500 mL dan diinkubasi selama 4 hari. Selanjutnya hasil kultivasi direndam dalam 200 mL akuades steril selama 1 jam. Larutan hasil rendaman kemudian disaring dan disimpan di dalam lemari es. Kultivasi SSF ini mengacu pada (Setiawan *et al.*, 2021). Hasil fermentasi tersebut dikarakterisasi menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) serta spektrofotometer UV-Vis.

3.3.7 Karakterisasi Hasil Fermentasi

3.3.7.1 Karakterisasi Glukosamin dan Aktivitas Unit dengan Spektrofotometer UV-Vis

Karakterisasi glukosamin dan penentuan enzim kitinase dilakukan berdasarkan Atalla *et al.* (2020) menggunakan reagen asam 3,5-dinitrosalisilat (DNS). Prosedur dimulai dengan pada tabung reaksi dimasukkan 1 mL hasil fermentasi

atau ekstrak kasar enzim kemudian ditambahkan 1 mL larutan koloid kitin 1% sebagai substrat dan campuran dihomogenkan untuk memastikan interaksi yang optimal antara enzim dan substrat. Inkubasi dilakukan dalam *waterbath* pada suhu 40°C selama 30 menit. Setelah masa inkubasi, 1 mL reagen DNS ditambahkan ke dalam tabung reaksi dan dididihkan selama 10 menit. Setelah sampel mencapai suhu ruang, absorbansi diukur pada panjang gelombang 540 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis mengacu pada Larasati, 2023. Satu unit aktivitas kitinase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang diperlukan untuk melepaskan 1 μmol glukosamin dalam satu menit. Pengukuran uji aktivitas enzim kitinase dan glukosamin dilakukan masing-masing tiga kali pengulangan untuk memastikan konsistensi dan keakuratan hasil. Konsentrasi glukosamin ditentukan dengan persamaan kurva standar D-glukosamin.

3.3.7.2 Karakterisasi Kadar Protein dan Aktivitas Spesifik dengan Spektrofotometri UV-Vis

Karakterisasi kadar protein mengacu pada metode Lowry *et al.* (1951) akuades sebanyak 0,9 mL dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 0,1 mL sampel enzim, ditambahkan pereaksi C Lowry (larutan 2% Na_2CO_3 dalam pelarut NaOH ditambah dengan 5 mL $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% yang ditambahkan pada 3 mL Na/K tartrat 1%) dihomogenkan dan diinkubasi selama 10 menit. Pereaksi D Lowry (*folin ciocelleau*) ditambahkan kedalam tabung reaksi sebanyak 0,5ml dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit. Sampel yang terinkubasi diukur absorbansi pada panjang gelombang 750 nm dan dilakukan pengukuran 3 kali. Karakterisasi kadar protein dilakukan untuk memastikan banyak enzim yang terekresikan dari isolat melalui proses fermentasi serta mengukur konsentrasi total protein dalam sampel.

3.3.7.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan berdasarkan Martosuyono *et al.* (2014). Hasil kultivasi disentrifugasi selama 1 menit untuk membersihkan dari

pengotor dengan filtrat diambil dan endapan dibuang sebagai pengotor. Selanjutnya, dilakukan sentrifugasi kedua untuk memperoleh endapan glukosamin, dengan penambahan etanol proanalys (PA) dalam rasio 1:1 hingga mencapai volume total 1000 µl. Setelah disentrifugasi selama 1 menit, etanol PA dipisahkan dari endapan. Endapan yang diperoleh kemudian dilarutkan dalam 500 mikroliter akuades dan dihomogenkan, menghasilkan larutan yang siap untuk analisis kromatografi lapis tipis (KLT). Analisis KLT dilakukan dengan menotolkan larutan pada plat silika sebagai fase diam. Sebagai fase gerak, digunakan campuran isopropil alkohol, ammonia, dan akuades dengan rasio 7:2:1. Plat silika yang telah ditotol dimasukkan ke dalam chamber dan dielusi hingga mencapai tanda batas yang telah ditentukan. Setelah plat mengering, noda-noda yang terbentuk dapat diamati, memungkinkan perhitungan nilai Rf dari sampel glukosamin.

3.3.8 Isolasi dan Pemurnian Enzim Kitinase

3.3.8.1 Presipitasi Protein

Presipitasi protein mengacu pada metode El-Beltagi *et al.* (2022) dengan cara mencampur ekstrak kasar dengan 60% ammonium sulfat, dan disentrifius 7000 rpm selama 30 menit. Larutan enzim dan ammonium sulfat disentrifus dalam temperatur 4°C, setelah 30 menit dipisahkan endapan dan filtrat. Endapan protein diambil dengan dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7 dan 50 mM, larutan endapan disimpan dalam *refrigerator*.

3.3.8.2 Dialisis

Proses pemurnian enzim dilanjutkan dengan tahap dialisis menggunakan membran selofan pada kondisi suhu rendah (4°C) berdasarkan metode Priadi dkk. (2018). Larutan protein yang telah diendapkan sebelumnya dimasukkan ke dalam kantong selofan yang kemudian diikat dengan rapat. Kantong ini lalu direndam dalam wadah berisi larutan penyangga fosfat dengan pH 7 dan konsentrasi 10 mM. Dialisis berlangsung selama satu hari penuh, dengan prosedur penggantian

larutan penyangga yang dilakukan setiap dua jam sekali. Untuk memastikan efektivitas proses, setiap kali larutan penyangga diganti, dilakukan uji dengan meneteskan larutan BaCl_2 1% ke dalam larutan penyangga yang telah digunakan. Munculnya endapan putih mengindikasikan bahwa proses dialisis belum selesai, sehingga perlu dilanjutkan dengan penggantian larutan penyangga yang baru.

Prosedur ini diulang secara konsisten hingga tidak ada lagi endapan putih yang terbentuk saat pengujian dengan BaCl_2 , menandakan bahwa enzim telah mencapai tingkat kemurnian yang diinginkan. Metode ini memastikan pemisahan yang efektif antara enzim dengan komponen-komponen lain yang tidak diinginkan, menghasilkan preparasi enzim yang murni untuk analisis dan aplikasi lebih lanjut. Enzim yang telah murni dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

3.3.9 Pengujian Kerja Enzim Kitinase dalam Degradasi Substrat

Pengujian aktivitas enzim kitinase dalam proses degradasi mengacu pada penelitian Yang *et al.* (2016) dengan menggunakan satu jenis substrat, yaitu kulit udang secara duplo. Substrat akan didegradasi oleh enzim kitinase yang telah diisolasi. Sebanyak 0,5 gram kulit udang dimasukkan ke dalam tiga tabung reaksi, lalu ditambahkan 2 mL enzim kitinase. Degradasi substrat dilakukan dengan interval 0 jam (menit awal) ; 2 jam ; 4 jam ; 6 jam ; dan 8 jam. Pada setiap interval diekstraksi dan filtrat akan disimpan di dalam vial. Filtrat yang diperoleh akan digunakan pada uji antibakteri untuk mengetahui keaktifannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

3.3.10 Uji Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dengan metode *Microtiter Assay* mengacu pada Elshikh *et al.* (2016) dan disesuaikan dengan standar *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Aktivitas antibakteri diuji menggunakan bakteri patogen gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*. Bakteri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam menggunakan media TSB. seperti yang dijelaskan pada Prosedur 3.3.3.2. Inokulum bakteri patogen dibiarkan

selama 2 jam dan diencerkan dengan perbandingan 1 mL:150 μ L. Siapkan *well plate* 96 cells, masukkan blanko secara triplo (media TSB 50 μ L dan bakteri 50 μ L), kemudian masukkan kontrol positif secara triplo (berisi media TSB 50 μ L, *ciprofloxacin* 50 μ L, dan bakteri patogen 10 μ L), masukkan kontrol negatif secara triplo (berisi media TSB 50 μ L, aquades steril 50 μ L, dan bakteri 10 μ L), masukkan sampel dengan masing-masing interval waktu secara triplo (berisi media TSB 50 μ L, sampel 50 μ L, dan bakteri 10 μ L), terakhir masukkan kontrol kontaminan sebanyak 12 sumur (media TSB 100 μ L). Selanjutnya tambahkan reagen resazurin ke seluruh sumur sebanyak 25 μ L dan tunggu hingga warna kontrol negatif berubah menjadi warna merah muda lalu amati perubahan warna pada sampel. Jika sampel menunjukkan warna biru keunguan maka dikatakan bahwa sampel tersebut aktif menghambat pertumbuhan bakteri, namun jika sampel berubah menjadi warna merah muda artinya sampel tidak aktif atau tidak bisa menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Prosedur yang dilakukan sama untuk dua jenis bakteri patogen yaitu bakteri gram gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus*.

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Simpulan dari penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Diperoleh enzim kitinase murni dari isolat 18A12RF dengan aktivitas spesifik enzim sebesar 0,6573 U/mg.
2. Enzim kitinase yang dihasilkan dari isolat fungi 18A12RF mampu menghidrolisis dan mendegradasi kitin menjadi produk *chitooligosaccharides* (COS).
3. Produk COS hasil degradasi oleh enzim kitinase menunjukkan keaktifan terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* dan bakteri patogen gram positif *Staphylococcus aureus* pada interval waktu 8 jam.

5.2 Saran

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

1. Perlu dilakukan degradasi substrat kulit udang menggunakan enzim kitinase dengan interval waktu 16 jam yang bertujuan untuk mengetahui tingkat keaktifan produk COS pada interval waktu 16 jam.
2. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut seperti LC-MS/MS pada produk COS yang didapatkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aam, B. B., Heggset, E. B., Norberg, A. L., Sørli, M., and Vårum, K. M. 2010. Production of Chitooligosaccharides and Their Potential Applications in Medicine. *Marine Drugs*. 8: 1482–1517.
- Adewal, M. A. K., Abdullah, A., Zamani, N. P., Arafat, D., Ayu, I. P., dan Subhan, B. 2025. Potensi Aktivitas Antioksidan Ekstrak Spons Laut *Stylissa carteri*. *JPHPI*, 28(3): 245–253.
- Aminov, R. I. 2010. A brief history of the antibiotic era : lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1(12): 1–7.
- Atalla, S. M. M., EL Gamal, N. G., and Awad, H. M. 2020. Chitinase of marine penicillium chrysogenum MH745129: Isolation, identification, production and characterization as controller for citrus fruits postharvest pathogens. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 13(1): 19–28.
- Ayer, P. I. L., Mantayborbir, V., Bukorpioper, I. I., Rejauw, K., dan Mandey, K. 2024. Potensi Ekstrak Senyawa Spons Laut Jenis *Aplysina aerophoba* Asal Perairan Base-G Sebagai Antibakteri *Eschericia coli* dan. *ACROPORA*, 7(2): 121–127.
- Bell, J. J., Mcgrath, E., Biggerstaff, A., Bates, T., Bennett, H., Marlow, J., and Shaffer, M. 2015. Sediment impacts on marine sponges. *Marine Pollution Bulletin*. 94(1–2): 5–13.
- Charismawati, N. A., Erikania, S., dan Ayuwardani, N. 2021. Analisis Kadar Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Yang Beredar Online Dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dan Spektrofotometri UV- Vis. *Jurnal Kartika Kimia*, 4(2): 58–65.
- Choiriyah, A. R., Madjid, A. D. ., Yulianti, E., Mubasyiroh, Adi, T. K., Zulfikar, M. A., dan Setiyanto, H. 2025. Sintesis dan Pemanfaatan Kitosan Berbasis Limbah Udang: Integrasi Etika Islam dan Sains Dalam Pemngembangan Bahan Ramah Lingkungan. *Es-Syajar: Journal of Islam, Science and Technology Integration*, 03(01): 297–321.

- Corneliyawati, E., Massora, Khikmah, dan Arifin, A. S. 2018. Optimalisasi Produksi Enzim Kitinase pada Isolat Jamur Kitinolitik dariI SAMPEL Tanah Rizosfer. *Edubiotik*, 3(1): 62–69.
- El-Beltagi, H. S., El-Mahdy, O. M., Mohamed, H. I., and El-Ansary, A. E. 2022. Antioxidants, Antimicrobial, and Anticancer Activities of Purified Chitinase of *Talaromyces funiculosus* Strain CBS 129594 Biosynthesized Using Crustacean Bio-Wastes. *Agronomy*. 12(11).
- Elshikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R., and Banat, I. M. 2016. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnology Letters*. 38(6):1015–1019.
- Fan, L., Khondee, N., and Weerawatanakorn, M. 2025. Structure characteristics related to biological properties and application of chitooligosaccharides: Mini-Review. *Journal of Food Bioactives*. 29: 20–28.
- FAO. 2020. The State of The World Fisheries and Aquaculture 2020.
- Farag, A. M., Abd-Elnabey, H. M., Ibrahim, H. A. H., and El-Shenawy, M. 2016. Purification, characterization and antimicrobial activity of chitinase from marine-derived *Aspergillus terreus*. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(2): 185–192.
- Forestryana, D., dan Arnida. 2020. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2): 113–124.
- Frisvad, J. C., Møller, L. L. H., Larsen, T. O., Kumar, R., and Arnau, J. 2018. Safety of the fungal workhorses of industrial biotechnology: update on the mycotoxin and secondary metabolite potential of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(22): 9481–9515.
- Grover, A. 2012. Plant Chitinases: Genetic Diversity and Physiological Roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 31: 57–73.
- Hamed, I., Özogul, F., and Regenstien, J. M. 2016. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in Food Science and Technology*, 48(6): 40–50.
- Hamid, R., Khan, M. A., Ahmad, M., Ahmad, M. M., Abdin, M. Z., Musarrat, J., and Javed, S. 2013. Chitinases: An update. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 5(1): 21–29.

- Hardoko, H., Sasmito, B. B., Afandi, M. R.. 2017. Study of glucosamine production from shrimp shells by fermentation using *Trichoderma harzianum*. *The Journal of Experimental Life Sciences*. 7(2).
- Hartl, L., Zach, S., and Seidl-Seiboth, V. 2012. Fungal chitinases: Diversity, mechanistic properties and biotechnological potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93(2): 533–543.
- Huh, A. J., and Kwon, Y. J. 2011. “Nanoantibiotics”: A new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of Controlled Release*, 156(2): 128–145.
- Jamilatun, M., Azzahra, N., dan Aminah, A. 2020. Perbandingan Pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* pada Media Instan Modifikasi Carrot Sucrose Agar dan Potato Dextrose Agar. *Jurnal Mikologi Indonesia*, 4(1): 168–174.
- Kamar, I., Zahara, F., Yuniarni, D., dan Umairah, R. U. 2021. Identifikasi Parasetamol dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Quimica: Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*, 3(1): 24–29.
- Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., and Collins, J. J. 2010. *How antibiotics kill bacteria : from targets to networks*. 8(6): 423–435.
- Kong, M., Guang, X., Xing, K., and Jin, H. 2010. International Journal of Food Microbiology Antimicrobial properties of chitosan and mode of action : A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1): 51–63.
- Kosmidis, C., and Denning, D. W. 2015. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis. *Thorax*, 70(3): 270–277.
- Laila, A., Setiawan, F., Widyastuti, W., Fadhilah, M. R., Setiawan, A., Juliasih, N. L. G. R., Setiawan, W. A., Apriliana, E., Ahmadi, P., Arai, M., and Hendri, J. 2023. Exploration and Biorefinery Antimicrobial Agent through Solid State Fermentation from Indonesia’s Marine Actinomycetes. *Fermentation*, 9(334): 1-14.
- Latgé, J. P., and Chamilos, G. 2020. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis in 2019. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(1): 310–350.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265–275.
- Maggadani, B. P., Setyahadi, S., dan Harmita. 2017. Skrining dan evaluasi aktivitas kitinase dari sembilan isolat bakteri lokal. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 4(1): 13–23.

- Martosuyono, P., Pratitis, A., Prasetya, A., and Prabawati, E. K. 2014. Desalination of Chitooligosaccharides Using Gel Filtration and Ultrafiltration. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 9(3): 127.
- Moloney, M. G. 2016. Natural Products as a Source for Novel Antibiotics. *Trends in Pharmacological Sciences*, 37(8): 689–701.
- Moore, D., Robson, G. D., and Trinci, A. P. J. 2022. *21st Century Guidebook to Fungi*. Cambridge University Press.
- Oyeleye, A., and Normi, Y. M. 2018. Chitinase: Diversity, limitations, and trends in Engineering for suitable applications. *Bioscience Reports*, 38(4).
- Panjaitan, R. S., Djohansah, V., Septiyani, A., Ardian, K. D., dan Asriyanti, L. S. 2023. Identifikasi Kandungan Karbohidrat Dan Protein Secara Kualitatif Dan Kuantitatif Pada Minuman Cokelat Bubuk Kemasan. *Indo J Pharm Res*, 3(2): 9-19.
- Paulussen, C., Hallsworth, J. E., Álvarez-Pérez, S., Nierman, W. C., Hamill, P. G., Blain, D., Rediers, H., and Lievens, B. 2017. Ecology of aspergillosis: insights into the pathogenic potency of *Aspergillus fumigatus* and some other *Aspergillus* species. *Microbial Biotechnology*, 10(2): 296–322.
- Pratiwi, R. A., and Nandiyanto, A. B. D. 2022. How to Read and Interpret UV-VIS Spectrophotometric Results in Determining the Structure of Chemical Compounds. *Indonesian Journal of Educational Research and Technology*, 2(1): 1–20.
- Pratiwi, R. S., Susanto, T. E., Alpha, Y., dan Wardani, K. 2015. Enzim Kitinase dan Aplikasi di Bidang Industri : Kajian Pustaka. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 3(3): 878–887.
- Priadi, G., Setiyoningrum, F., and Afiati, F. 2018. Enzim β -galaktosidase dari *Leuconostoc mesenteroides* indigenus : ekstraksi , purifikasi parsial dan karakterisasi. *Pros Semnas Masy Biodiv Indon*, 4(2): 184–189.
- Purwanto. 2016. The role and efficiency of ammonium sulphate precipitation in purification process of papain crude extract. *Procedia Chem*. 18: 127-131
- Riska, M., Iswadi, Samingan, Rahmatan, H., dan Artika, W. 2024. Karakterisasi Suhu Optimum Enzim Kitinase Fungi Kitinolitik *Aspergillus niger* Asal Limbah Eksoskeleton Udang Windu (*Penaeus monodon*). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi FKIP USK*, 9(1): 65–69.

- Risqi, S., Rani, A., and Riski, E. 2025. Eksplorasi Limbah Tulang Ikan Sunu Sebagai Sumber Biomaterial Kitosan : Proses Ekstraksi dan Karakteristiknya. *Journal Online of Physics*, 10(2): 91–99.
- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Susca, A., Tanney, J. B., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Yaguchi, T., and Frisvad, J. C. 2014. Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78(1): 141–173.
- Sellyna, N., Miranti, Nurulita, Y., Saputra, E., Utama, P. S., dan Nugroho, T. T. 2020. Optimasilisasi Waktu Fermentasi, Kadar Air dan Konsentrasi Cu^{2+} pada Produksi Lakase *Trichoderma asperellum* LBKURCC1 Secara Fermentasi Padat Batang Padi dalam Reaktor Labu. *Chimica et Natura Acta*, 8(1): 7–16.
- 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. Fermentation shrimp shell waste in solid state using *pseudonocardia carboxydvorans* 18a13o1 to produce bioactive metabolites. *Fermentation*, 7(4): 1–10.
- Show, P. L., Oladele, K. O., Siew, Q. Y., Aziz Zakry, F. A., Lan, J. C. W., and Ling, T. C. 2015. Overview of citric acid production from *Aspergillus niger*. *Frontiers in Life Science*, 8(3): 271–283.
- Silver, L. L. 2011. Challenges of antibacterial discovery. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(1): 71–109.
- Thomas, L., Larroche, C., and Pandey, A. 2013. Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 81: 146–161.
- Ventola, C. L. 2015. *The Antibiotic Resistance Crisis Part I : Causes and Threats*. 40(4): 277–283.
- Wang, C., Chen, X., Zhou, N., Chen, Y., Zhang, A., Chen, K., and Ouyang, P. 2022. Property and Function of a Novel Chitinase Containing Dual Catalytic Domains Capable of Converting Chitin Into N-Acetyl-D-Glucosamine. *Frontiers in Microbiology*, 13(2): 1–11.
- Whitman, W. B., Goodfellow, M., Kämpfer, P., Busse, H.-J., Trujillo, M. E., Ludwig, W., and Suzuki, K. 2012. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. In *Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology, Sixth Edition*. Springer.

- Widyastuti, W., Setiawan, F., Al Afandy, C., Irawan, A., Laila, A., Juliasih, N. L. G. R., Setiawan, W. A., Arai, M., Hendri, J., and Setiawan, A. 2022. Antifungal Agent Chitooligosaccharides Derived from Solid-State Fermentation of Shrimp Shell Waste by *Pseudonocardia antitumoralis* 18D36-A1. *Fermentation*, 8(8).
- Wright, G. D. 2014. *Something old , something new : revisiting natural products in antibiotic drug discovery 1*. 154(6): 147–154.
- Yang, Shaoqing, Xing Fu, Qiaojuan Yan, Yu Guo, Zhuqing Liu, dan Zhengqiang Jiang. 2016. “Cloning, expression, purification and application of a novel chitinase from a thermophilic marine bacterium *Paenibacillus barengoltzii*. *Food Chemistry*: 1041-1048.
- Younes, I., and Rinaudo, M. 2015. Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine Drugs*, 13(3): 1133–1174.
- Zhang, M., Li, Z., Duan, M., Dai, Y., Jin, Y., Liu, Y., Zhang, Y., Li, X., and Yang, F. 2024. Effects of chitooligosaccharide on the in vitro antibacterial activity against avian *Escherichia coli* and the pharmacokinetics of florfenicol in healthy chickens. *Poultry Science*. 103(2): 1–7.