

**PENAPISAN DAN FRAKSINASI EKSTRAK AKTINOMISETES LOKAL
INDONESIA UNTUK PENCARIAN KANDIDAT ANTIPATOGEN
Vibrio sp. PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) SECARA *IN*
*VITRO***

(Skripsi)

Oleh :

**NELARASI SIGALINGGING
2117021071**



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

ABSTRAK

PENAPISAN DAN FRAKSINASI EKSTRAK AKTINOMISETES LOKAL INDONESIA UNTUK PENCARIAN KANDIDAT ANTIPATOGEN *Vibrio* sp. PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) SECARA *IN VITRO*

**Oleh
Nelarasi Sigalingging**

Udang vannamei merupakan komoditas ekspor yang cukup besar sehingga banyak dibudidayakan di Indonesia. Dalam proses budidaya ada banyak kendala yang terjadi seperti penyakit yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. penyebab penyakit vibriosis. *Vibrio* sp. biasanya ditanggulangi dengan menggunakan antibiotik dan bahan kimia, namun penggunaan yang kurang tepat dapat memicu terjadinya resistensi dan risiko kerusakan lingkungan. Oleh karena itu tentu diperlukan penanganan yang lebih aman dan efektif. Aktinomisetes merupakan salah satu solusi yang dapat diberikan karena aktinomisetes memiliki kemampuan memproduksi senyawa metabolit sekunder dengan sifat antibakteri. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan ekstrak kultur aktinomisetes lokal Indonesia dengan aktivitas penghambatan pertumbuhan *Vibrio* sp., mengetahui kadar hambat minimum (KHM) ekstrak kultur aktinomisetes terhadap pertumbuhan *Vibrio* sp., dan memfraksinasi ekstrak kasar kultur aktinomisetes dengan aktivitas penghambatan pertumbuhan *Vibrio* sp.. Metode yang digunakan dalam penapisan adalah difusi cakram dengan menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak yaitu 2 µl, 10 µl, 25 µl, metanol sebagai kontrol negatif, dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Ekstrak aktinomisetes akan diuji dengan metode dilusi untuk mengetahui nilai kadar hambat minimumnya. Selanjutnya ekstrak difraksinasi menggunakan HPLC preparatif di mana hasil fraksinasi diuji kembali menggunakan metode difusi cakram dengan konsentrasi ekstrak 5 µl, 20 µl, metanol sebagai kontrol negatif, dan kloramfenikol sebagai kontrol positif. Hasil uji aktivitas berupa zona hambat diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Dari hasil penelitian diperoleh ekstrak aktinomisetes dengan kode a.T.8485 yang aktif menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. galur V1, V4 dan E8.4-2 dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) 1,95 µg/ml. Sedangkan hasil fraksinasi HPLC yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan *Vibrio* sp. galur V1, V4 dan E8.4-2 adalah fraksi pada menit ke-11, menit ke-12, menit ke-13 dan menit ke-14.

Kata kunci : Aktinomisetes, Antibakteri. *Vibrio* sp..

ABSTRACT

SCREENING AND FRACTIONATION OF INDONESIAN LOCAL ACTINOMYCETES EXTRACT FOR THE SEARCH OF ANTIPATHOGEN CANDIDATES *Vibrio* sp. IN VANNAMEI SHRIMP (*Litopenaeus vannamei*) IN VITRO

By
Nelarasi Sigalingging

Litopenaeus vannamei is a major export commodity that is widely cultivated in Indonesia. However, shrimp farming often faces several challenges, including diseases caused by *Vibrio* species, the bacteria responsible for vibriosis. *Vibrio* infections are typically treated using antibiotics and chemical agents, but improper or excessive use may lead to antibiotic resistance and pose environmental risks. Therefore, safer and more effective alternatives are needed. One promising solution is the use of actinomycetes, microorganisms known for producing secondary metabolites with antibacterial properties. This study aims to obtain crude extracts from Indonesian local actinomycetes cultures with inhibitory activity against *Vibrio* sp., determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of the crude extracts, and fractionate the crude extract with antibacterial activity. The screening method employed was the disc diffusion assay, using extract concentrations of 2 µl, 10 µl, and 25 µl, with methanol as a negative control and chloramphenicol as a positive control. The minimum inhibitory concentration was determined using the dilution method. Subsequently, the crude extract was fractionated using preparative HPLC, and the resulting fractions were tested again using the disc diffusion method at concentrations of 5 µl and 20 µl, with methanol and chloramphenicol as negative and positive controls, respectively. The inhibition zones were measured using a caliper, and the data were presented in the form of images, tables, and graphs. The study successfully obtained an active actinomycete extract labeled a.T.8485, which inhibited the growth of *Vibrio* sp. strains V1, V4, and E8.4-2, with a Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of 1.95 µg/ml. Fractionation results from preparative HPLC showed that fractions collected at minutes 11, 12, 13, and 14 exhibited inhibitory activity against *Vibrio* sp. strains V1, V4, and E8.4-2.

Keywords : Actinomycetes, Antibacterial. *Vibrio* sp..

**PENAPISAN DAN FRAKSINASI EKSTRAK AKTINOMISETES LOKAL
INDONESIA UNTUK PENCARIAN KANDIDAT ANTIPATOGEN
Vibrio sp. PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) SECARA *IN*
*VITRO***

Oleh :

NELARASI SIGALINGGING

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

Pada

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



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

Judul Skripsi : PENAPISAN DAN FRAKSINASI EKSTRAK
AKTINOMISETES LOKAL INDONESIA UNTUK
PENCARIAN KANDIDAT ANTIPATOGEN *Vibrio* sp.
PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*)
SECARA *IN VITRO*

Nama Mahasiswa : Nelarasi Sigalingging

NPM : 2117021071

Program Studi : S1 Biologi

Jurusan : Biologi

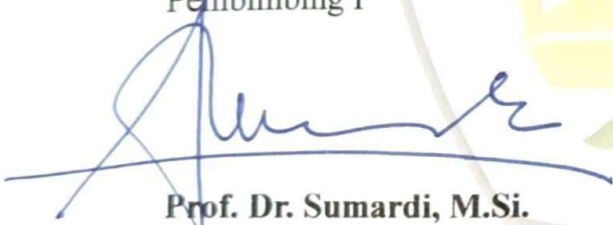
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II


Prof. Dr. Sumardi, M.Si.
NIP. 196503251991031003


Dr. Amila Pramisandi, S.Farm., M.Farm.
NIP. 198401032009122002

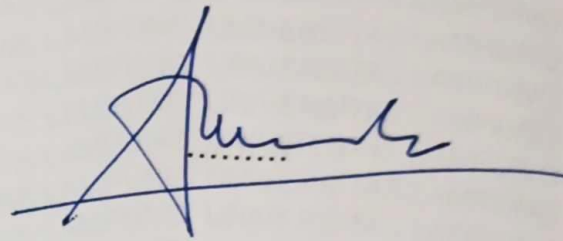
2. Ketua Jurusan Biologi FMIPA


Dr. Jani Master, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

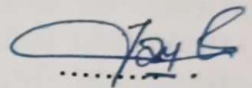
MENGESAHKAN

1. Tim penguji

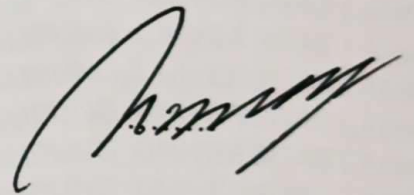
Ketua Penguji : **Prof. Dr. Sumardi, M.Si.**



Anggota Penguji : **Dr. Amila Pramisandi, S.Farm., M.Farm.**



Penguji Utama : **Prof. Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc.**



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: **18 Juli 2025**

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nelarasi Sigalingging

NPM : 2117021071

Jurusan : Biologi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul:

“ PENAPISAN DAN FRAKSINASI EKSTRAK AKTINOMISETES LOKAL INDONESIA UNTUK PENCARIAN KANDIDAT ANTIPATOGEN *Vibrio* sp. PADA UDANG VANNAMEI (*Litopenaeus vannamei*) SECARA IN VITRO”

Apa yang tertulis dalam karya ilmiah baik data, gagasan, dan pembahasannya adalah benar karya saya sendiri berdasarkan pengetahuan dan informasi yang telah saya dapatkan. Karya ilmiah ini saya susun dengan mengikuti aturan dan etika akademik yang berlaku dan tidak berisikan hasil karya orang lain yang telah dipublikasikan sebelumnya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat, jika dikemudian hari pernyataan ini tidak benar atau terdapat kecurangan, maka saya siap mempertanggungjawabkannya.

Bandar Lampung, 23 Juli 2025



Nelarasi Sigalingging
NPM. 2117021071

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan pada 20 Agustus 2003 di Sumbul. Penulis merupakan anak kedua dari tiga bersaudara dari pasangan Bapak Laurentius Sigalingging dan Ibu Nenny Lingga. Penulis beralamat di Hutalama, Desa Kutagugung, Kecamatan Sumbul, Kabupaten Dairi, Provinsi Sumatera Utara.

Penulis memulai pendidikan pertama di Sekolah Dasar (SD) Negeri 030345 Hutagugung pada tahun 2009 dan lulus pada tahun 2015. Kemudian pendidikan dilanjutkan di Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Sumbul tahun 2015 – 2018. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Sumbul pada tahun 2018 – 2021. Penulis resmi diterima sebagai mahasiswi Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung pada tahun 2021 melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN).

Selama menempuh pendidikan di jurusan Biologi, penulis pernah mengikuti program Merdeka Belajar Kampus Merdeka (MBKM) yaitu di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) KST B.J. Habibie, Serpong pada bulan Agustus 2023- Februari 2024. Penulis melanjutkan Praktik Kerja Lapangan di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) KST B.J. Habibie, Serpong dengan judul "Skrining Ekstrak Aktinomisetes dan Kapang dalam Menghambat Pertumbuhan *Aeromonas Hydrophila* pada Ikan Lele (*Clarias* Sp.) Secara *In Vitro*" Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) selama 40 hari di Desa Jepara, Kecamatan Way Jepara, Kabupaten Lampung Timur, Provinsi Lampung pada bulan Juni - Agustus.

Kemudian penulis juga pernah menjadi asisten praktikum matakuliah zoologi invertebrata, zoologi vertebrata dan Mikrobiologi Umum.

Selama menjadi mahasiswa penulis juga aktif dalam kegiatan kemahasiswaan diantaranya Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMBIO) menjabat sebagai anggota Biro Dana dan Usaha tahun 2022, kemudian menjabat sebagai Ketua Biro Dana dan Usaha pada tahun 2023. Bagian Ikatan Mahasiswa Dairi Lampung (IMADALA) dari tahun 2021-2025.

PERSEMBAHAN

Puji dan syukur saya panjatkan kepada Allah Tritunggal, yang telah memberikan kasih, karunia, berkat, hikmat dan kebijaksanaan sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.

Saya persembahkan skripsi ini untuk:

Kedua orang tua yang sangat saya cintai dan sayangi yang selalu mendoakan, mengasihi tiada henti, mendukung setiap proses, dan mengusahakan apapun untuk perjalanan hidup saya.

Abang dan adikku yang selalu memberikan dukungan, motivasi, hiburan serta kasih sayang setiap waktu.

Bapak dan Ibu dosen yang telah membimbing dan mengarahkan saya dengan penuh kesabaran.

Seluruh teman-teman seperjuangan yang telah kebersamai dan berjuang dari awal, saat ini dan seterusnya dalam perjalanan hidup saya. Serta Almamaterku tercinta.

Serta diri sendiri yang telah berani melangkah dan berjuang sejauh ini

MOTTO

"janganlah takut, sebab Aku menyertai engkau, janganlah bimbang, sebab Aku ini Allahmu; Aku akan meneguhkan, bahkan akan menolong engkau; Aku akan memegang engkau dengan tangan kanan-Ku yang membawa kemenangan."
(yesaya 41:10)

"Sebab penderitaan ringan saat ini; yang menghasilkan bagi kami kepenuhan kemuliaan kekal yang tidak ada bandingannya."
(Yeremia 17:7)

"Karena Allah tidak menetapkan kita untuk ditimpa murka, tetapi untuk memperoleh keselamatan melalui Tuhan kita Yesus Kristus."
(1 Tesalonika 5:9)

"Jangan takut menjadi dirimu sendiri. Hidup adalah milikmu, lakukan apa yang ingin kamu lakukan"
(Min Yoongi)

"love my self"

SANWACANA

Puji syukur penulis ucapkan kepada Allah Tritunggal atas kasih karunia dan penyertaan-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul **”Penapisan dan Fraksinasi Ekstrak Aktinomisetes Lokal Indonesia untuk Pencarian Kandidat Antipatogen *Vibrio* Sp. pada Udang *Vannamei* (*Litopenaeus vannamei*) Secara *In Vitro*”** yang menjadi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Sains di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung. Penulis menyadari bahwa dalam proses penyusunan dan penulisan skripsi ini masih terdapat banyak kekurangan, namun penulis sangat bersyukur karena mendapatkan banyak dukungan, bimbingan serta bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, dengan ketulusan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Prof. Dr. Ir. Lusmeilia Afriani, D.E.A, IPM., ASEAN Eng., selaku Rektor Universitas Lampung.
2. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
3. Bapak Dr. Jani Master, S.Si., M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
4. Ibu Dr. Kusuma Handayani, M.Si., selaku Ketua Program Studi S1 Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
5. Bapak Prof. Dr. Sumardi, M.Si., selaku Dosen Pembimbing I yang telah membantu, membimbing, memberikan arahan, dan saran kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.

6. Ibu Dr. Amila Pramisandi, S.Farm., M.Farm., selaku Pembimbing II yang telah membantu, membimbing, memberikan arahan, saran, motivasi dan semangat kepada penulis dalam proses penyelesaian skripsi ini.
7. Bapak Prof. Dr. G. Nugroho Susanto, M.Sc., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan banyak masukan, saran, kritik, motivasi, dan arahan yang membangun sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Ibu Dr. Nuning Nurcahyani, M.Sc., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, dukungan, semangat dan motivasi selama penulis perkuliahan sampai terselesainya skripsi ini.
8. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas ilmu dan pengetahuan yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan sampai mencapai gelar sarjana.
9. Seluruh staf dan karyawan Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung atas dukungan yang telah diberikan kepada penulis selama perkuliahan sampai mencapai gelar sarjana.
10. Kedua orang tua tercinta, Bapak Laurentius Sigalingging dan Ibu Nenny Lingga yang telah membesarkan, mendidik, memberi banyak cinta dan memberi dukungan yang tak henti-hentinya kepada penulis. Terimakasih atas pengorbanan luar biasa yang telah bapak dan mama lakukan demi masa depanku, terimakasih telah ada di setiap proses kehidupanku, semoga langkah kecil ini dapat menjadi semangat dan kebanggaan yang berkelanjutan.
11. Kedua saudara Septiyego Sigalingging dan Rafael Aprilio Sigalingging yang telah memberi banyak semangat dan dukungan.
12. Seluruh keluarga besar Op. Yoga Sigalingging dan keluarga besar Op. Olihta Lingga yang tak henti-hentinya memberi dukungan kepada penulis selama menjalani perkuliahan.
13. Faska Ria Pangaribuan dan Aulia N.H yang telah menjadi teman dan saudara penulis selama diperantauan. Terimakasih sudah menjadi tempat bercerita, berbagi keluh kesah dan kebahagiaan selama menjalani perkuliahan. Semoga hubungan baik ini terus berlanjut meski suatu saat nanti telah memilih jalan masing-masing.

14. Sahabat-sahabat terkasih Harlina Elo Azizah, Elisabeth Dian Anggraini, Apriansyah Tree Saputra, Muhammad Alif Nugroho yang selalu memberikan dukungan, dan motivasi untuk terus berjuang di masa perkuliahan
15. Supriono simbolon dan Renaldi Pafrian Silaen yang telah menjadi sahabat dan saudara penulis. Terimakasih atas waktu, semangat, dukungan dan bantuan yang selalu diberikan kepada penulis meski terpisah oleh jarak..
16. Seluruh rekan angkatan 2021 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung terutama teman-teman pimpinan HIMBIO tahun 2023 atas banyaknya pengalaman dan kebersamaan kepada penulis selama penulis menempuh pendidikan Strata Satu (S1).
17. Artis-artis Hybe Labels terutama BTS, TXT dan Enhypen, terimakasih atas lagu-lagu penuh makna yang telah menemani penulis dari awal perkuliahan. Menemani dalam mengerjakan tugas, mengerjakan laporan praktikum bahkan sampai mengerjakan skripsi ini. Terimakasih atas hiburan berupa video keseharian kalian yang memberi tawa dan kebahagiaan bagi penulis.
18. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah ikut memberikan pengalaman baru, kebersamaan serta perjalanan hidup penulis selama menempuh pendidikan Strata Satu (S1) 2021 Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lampung.

Bandar Lampung, 18 Juli 2025

Nelarasi Sigalingging

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR.....	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian.....	4
1.4 Kerangka Pemikiran	4
1.5 Hipotesis Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Udang vannamei (<i>L. vannamei</i>)	6
2.2 <i>Vibrio</i> sp.	8
2.3 Vibriosis	9
2.4 Aktinomisetes	10
2.5 Uji Aktivitas Antibakteri	12
2.6 HPLC preparatif	14
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	15
3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian.....	15
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.2.1 Alat Penelitian	15
3.2.2 Bahan Penelitian	15
3.3 Rancangan Penelitian	16
3.4 Pelaksanaan Penelitian	16
3.4.1 Pembuatan Kultur Cair Bakteri Uji	17
3.4.2 Penapisan Antibakteri.....	17
3.4.3 Produksi Ekstrak Aktinomisetes.....	19
3.4.4 Penetapan Nilai KHM (Kadar Hambat Minimum)	19
3.4.5 Fraksinasi Ekstrak Aktinomisetes	21
3.4.6 Uji Antibakteri Fraksi Hasil HPLC Preparatif	21
3.5 Pengamatan	22
3.6 Analisis Data	23
3.7 Diagram Alir.....	24

IV	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
4.1	Hasil Pengamatan	25
4.1.1	Penapisan antibakteri	25
4.1.2	Produksi Ekstrak Aktinomisetes	27
4.1.3	Penetapan Nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum)	28
4.1.4	Fraksinasi Ekstrak	30
4.1.5	Uji Antibakteri Fraksi Hasil HPLC Preparatif	30
4.2	Pembahasan	33
4.2.1	Penapisan Antibakteri	33
4.2.2	Produksi Ekstrak Aktinomisetes	37
4.2.3	Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM)	38
4.2.4	Fraksinasi Ekstrak	40
4.2.5	Uji Antibakteri Hasil Fraksinasi HPLC	40
V	SIMPULAN DAN SARAN	43
5.1	Simpulan	43
5.2	Saran	43
	DAFTAR PUSTAKA	44
	LAMPIRAN	49

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Konsentrasi senyawa uji pada seri pengenceran	20
2. Rerata diameter zona hambat ekstrak aktinomisetes	25
3. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak aktinomisetes	26
4. Hasil pengamatan kultur <i>Vibrio</i> sp. pada penetapan KHM	29
5. Nilai KHM ekstrak aktinomisetes a.T.8485 terhadap <i>Vibrio</i> sp.	29
6. Hasil uji antibakteri fraksi hasil HPLC preparatif terhadap <i>Vibrio</i> sp.	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Morfologi udang vannamei (<i>L.vannamei</i>).....	8
2. Susunan ekstrak saat uji aktivitas antibakteri.....	18
3. Susunan sampel fraksi hasil HPLC dalam petri.....	22
4. Diagram alir penelitian.....	24
5. Aktinomisetes. Keterangan: a). Isolat <i>Streptomyces</i> sp. a.T.8485.	28
6. Rumus perhitungan KHM.....	29
7. Kromatogram HPLC ekstrak aktinomisetes a.T.8485.	30
8 Pembuatan Kultur Cair Bakteri Uji.....	50
9. Penapisan Antibakteri	50
10. Produksi Ekstrak Aktinomisetes	51
11. Penetapan Nilai KHM.....	51
12. Fraksinasi Ekstrak Aktinomisetes	51
13. Uji Antibakteri Ekstrak Hasil HPLC Preparatif.....	52

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia adalah negara kepulauan terbesar di dunia. Berdasarkan data dari Direktorat Jenderal Pengelolaan Ruang Laut, Indonesia memiliki 17.499 pulau yang total luas wilayahnya sekitar 7,81 juta km², di mana sekitar 3,25 juta km² merupakan lautan, 2,55 juta km² merupakan Zona Ekonomi Eksklusif (ZEE), dan sekitar 2,01 juta km² merupakan daratan (Pratama, 2020).

Dengan lautan Indonesia yang sangat luas tentunya memiliki biota laut yang sangat beragam. Salah satu biota lautnya adalah udang vannamei. Udang vannamei adalah salah satu biota laut yang sangat sering dibudidayakan karena banyak diminati oleh masyarakat luas dari berbagai kalangan sebagai bahan pangan. Berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan tahun 2022, Indonesia telah mengekspor 1,19 juta ton udang dengan komposisi 77,5% berasal dari produksi budidaya dan 22,5% berasal dari produksi tangkapan, dengan total pemasukan 62,04 triliun rupiah. Produksi udang vannamei telah mencapai 75% dari keseluruhan produksi udang di Indonesia.

Di daerah pesisir Indonesia sudah banyak dikembangkan budidaya udang vannamei (*Litopenaeus vannamei*). Namun produksi budidaya udang dapat menurun disebabkan oleh berbagai macam masalah pada saat proses budidaya, seperti iklim yang berubah-ubah, manajemen tambak yang tidak optimal, ketersediaan pakan yang tidak sesuai, dan buruknya kualitas benih udang yang akan dibudidayakan. Kualitas air seperti perubahan pH, salinitas dan kadar oksigen juga dapat mempengaruhi kesehatan udang yang sedang

dibudidayakan. Namun, satu kendala yang sangat sering terjadi saat proses budidaya adalah serangan penyakit yang mampu menimbulkan kematian dengan intensitas tinggi, bahkan mampu menyebabkan gagal panen (Basir, dkk., 2023). Hal ini tentu membutuhkan perhatian khusus karena berdampak besar bagi budidaya udang dan tentunya dapat menimbulkan kerugian yang sangat besar.

Penyakit yang timbul pada udang dapat disebabkan oleh banyak faktor, antara lain serangan parasit, infeksi virus, dan juga infeksi bakteri. Salah satu penyakit yang umum menyerang budidaya udang adalah vibriosis yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp.. Keberadaan bakteri *Vibrio* sp. ini merupakan flora normal bagi udang vannamei dengan batas maksimum (Chandrakala dan Menaka, 2017). Bakteri *Vibrio* sp. merupakan patogen oportunistik yang umumnya dijumpai pada lingkungan pemeliharaan dan bersimbiosis dengan udang atau ikan air laut. Jika kondisi kesehatan udang menurun, bakteri ini akan bersifat patogen. Pada saat wabah, populasi bakteri *Vibrio* sp. dapat meningkat menjadi ribuan kali sehingga menyebabkan kematian udang sampai 100% (Widarnani dkk., 2012). Dengan demikian diperlukan upaya pencegahan sebelum udang terinfeksi penyakit tersebut.

Penggunaan antibiotik dan bahan kimia sangat sering digunakan dalam menanggulangi infeksi bakteri. Namun, penggunaan zat kimia yang kurang tepat dapat menyebabkan resistensi pada udang, memerlukan biaya yang relatif tinggi, mencemari lingkungan serta dapat membahayakan manusia sebagai konsumen (Mali dkk., 2023). Oleh karena terjadinya resistensi yang semakin meningkat, saat ini telah banyak dikembangkan metode lain yang lebih aman dan efektif yaitu dengan penggunaan bahan-bahan alami seperti penggunaan ekstrak tumbuhan sebagai pengobatan antibakteri. Seperti pada penelitian yang dilakukan oleh Fadillah, dkk. (2019) dengan menambahkan 2% ekstrak daun mangrove pada pakan dapat mencegah vibriosis pada udang udang vannamei (*L. vannamei*) dengan optimal.

Pemanfaatan kultur aktinomisetes sebagai sumber alami antipatogen terhadap *Vibrio* sp. masih belum banyak dilakukan, sedangkan aktinomisetes sendiri memiliki kemampuan sebagai sumber agen antibakteri seperti penelitian yang dilakukan oleh Kurniati, dkk. (2019) di mana aktinomisetes yang berasosiasi dengan koral yaitu *Streptomyces* sp. BD2 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Vibrio cholerae*. Aktinomisetes mampu memproduksi metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri. Kamjam, *et al.* (2017) menyatakan bakteri aktinomisetes mampu menghasilkan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, dan saponin yang memiliki efek biologis penting. Aktinomisetes dapat dijumpai dan tumbuh pada tanah pekarangan serta perkebunan dengan karakteristik humus, kering, lebih dingin, dan di sekitar akar tumbuhan (Pujiati, 2014). Selain itu juga dapat ditemukan pada organisme laut seperti koral (Kurniati, dkk., 2019) dan dari tumbuhan seperti kulit bawang (Nurjasmi dan Suryani, 2017).

Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian “Penapisan dan Fraksinasi Ekstrak Aktinomisetes Lokal Indonesia untuk Pencarian Kandidat Antipatogen *Vibrio* sp. pada Udang Vannamei (*L. Vannamei*) secara *In Vitro*” sebagai upaya menekan pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. penyebab vibriosis udang vannamei sebagai metode yang ramah lingkungan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah :

1. Mendapatkan ekstrak kultur aktinomisetes lokal Indonesia dengan aktivitas penghambatan pertumbuhan *Vibrio* sp.
2. Mengetahui kadar hambat minimum (KHM) ekstrak kasar kultur aktinomisetes terhadap pertumbuhan *Vibrio* sp. secara *in vitro*
3. Memfraksinasi ekstrak kasar kultur aktinomisetes dengan aktivitas penghambatan pertumbuhan *Vibrio* sp.

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat meningkatkan pemanfaatan ekstrak kultur aktinomisetes lokal Indonesia dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp., dapat mengetahui konsentrasi hambat minimum ekstrak kultur aktinomisetes dalam menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. sehingga dapat menjadi solusi bagi permasalahan vibriosis pada budidaya udang di Indonesia.

1.4 Kerangka Pemikiran

Udang vannamei merupakan salah satu biota laut yang sangat sering di budidayakan karena banyak diminati oleh masyarakat luas dari berbagai kalangan sebagai bahan pangan. Berdasarkan data Kementerian Kelautan dan Perikanan tahun 2022, Indonesia telah mengekspor 1,19 juta ton udang dengan komposisi 77,5% berasal dari produksi budidaya dan 22,5% berasal dari produksi tangkapan, dengan total pemasukan 62,04 triliun rupiah. Namun, salah satu kendala yang sangat sering terjadi saat proses budidaya adalah serangan penyakit yang mampu menimbulkan kematian dengan intensitas tinggi, bahkan mampu menyebabkan gagal panen. Salah satu penyakit yang umum pada udang adalah vibriosis, yang disebabkan oleh bakteri *Vibrio* sp. Upaya yang sering digunakan dalam menangani penyakit vibriosis ini adalah dengan penggunaan antibiotik, namun penggunaan antibiotik yang kurang tepat dapat menyebabkan resistensi pada udang. Penelitian ini dilaksanakan untuk memberikan solusi lain dalam menangani vibriosis yaitu dengan memanfaatkan ekstrak kultur aktinomisetes. Aktinomisetes mampu memproduksi berbagai metabolit sekunder salah satunya dengan aktivitas antibakteri yang diharapkan dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. Penelitian ini dilakukan melalui penapisan antibakteri *Vibrio* sp. terhadap ekstrak kultur aktinomisetes lokal Indonesia dengan menggunakan metode difusi cakram, penetapan kadar hambat

minimum (KHM) ekstrak kultur aktinomisetes terhadap *Vibrio* sp., dan fraksinasi ekstrak kultur aktinomisetes.

1.5 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Koleksi kultur aktinomisetes BRIN KST B.J Habibie Serpong dapat menjadi sumber antibakteri *Vibrio* sp. penyebab vibriosis pada udang vannamei (*L.Vannamei*).
2. Ekstrak kasar kultur aktinomisetes mampu menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. secara *in vitro* pada konsentrasi tertentu sebagai kadar hambat minimum (KHM).
3. Fraksi-fraksi dari ekstrak kasar kultur aktinomisetes menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan *Vibrio* sp..

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Udang vannamei (*L. vannamei*)

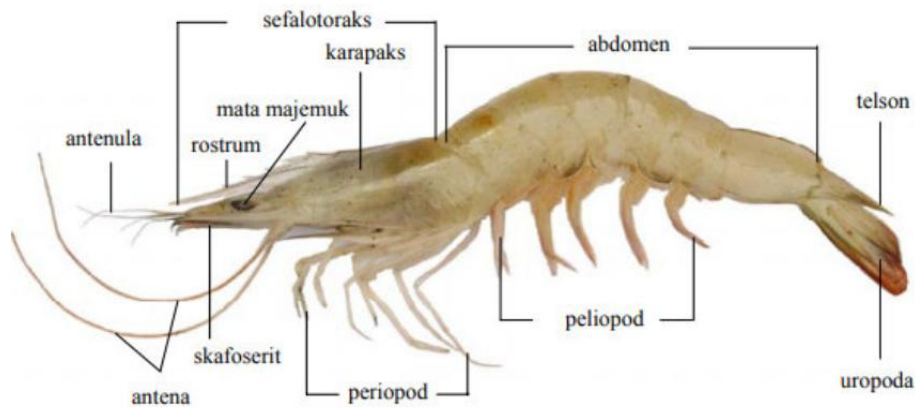
Udang vannamei (*L. vannamei*) merupakan hewan invertebrata dari famili Penaidae. Udang vannamei berasal dari perairan Amerika Latin dengan kondisi iklim subtropis. Udang ini suka hidup di kedalaman 70 meter dan merupakan hewan nokturnal, sehingga udang ini akan aktif mencari makan pada malam hari (Luthfiani, 2016). Udang vannamei tersebar di wilayah Pantai Pasifik, Meksiko, Laut Tengah, dan Selatan Amerika yang dimana merupakan wilayah dengan suhu air secara umum berkisar di atas 20 °C sepanjang tahun. Wilayah ini merupakan tempat populasi udang vannamei berada. Udang vannamei relatif mudah berkembang biak dan dibudidayakan sehingga menjadikannya salah satu spesies andalan dalam budidaya udang di beberapa negara dunia termasuk Indonesia (Muzahar, 2020).

Menurut Wyban dan Sweeny (1991), klasifikasi udang vannamei adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Arthropoda
Class : Malacostraca
Ordo : Decapoda
Famili : Penaeidae
Genus : *Litopenaeus*
Spesies : *Litopenaeus vannamei*

Bentuk tubuh udang vannamei berbuku-buku. Bagian tubuhnya dibagi menjadi dua, yaitu bagian kepala dan dada (*thorax*) dan bagian perut (*abdomen*). Seluruh tubuhnya dilapisi oleh *carapace* yang tersusun atas kitin. *Carapace* adalah bagian terluar tubuh udang yang merupakan eksoskeleton kuat. Eksoskeleton tersusun atas kalsium karbonat, karbohidrat, dan protein yang berada dalam proses asosiasi dengan respon imun (Agustini dkk., 2017). *Carapace* berfungsi sebagai pelindung jaringan tubuh udang yang dapat lepas saat proses berganti kulit (*moulting*). Kepala udang vannamei terdiri dari antenula, antena, mandibula, dan 2 pasang maxillae. Bagian kepala udang dilengkapi dengan 5 pasang kaki jalan (*periopod*), pada *periopod* terdiri dari 2 pasang maxillae dan 3 pasang maxiliped. Sementara itu perutnya beruas-ruas yang terdiri atas 6 ruas dan terdapat pleopod atau kaki renang sebanyak 5 pasang. Serta sepasang uropods yang bentuknya menyerupai kipas dan tepat di atas uropods terdapat teslon yang berfungsi mengatur keseimbangan saat udang berenang.

Bagian tubuh udang vannamei dibentuk oleh dua cabang (*biramous*) yaitu *exopodite* dan *endopodite*. Udang vannamei memiliki aktivitas berganti kulit (*moulting*) atau eksoskeleton yang dilakukan dalam periode waktu tertentu (*periodik*). Tubuh udang vannamei mengalami modifikasi sehingga dapat digunakan untuk keperluan makan, bergerak, dan melakukan *burrowing* atau membenamkan diri ke dalam lumpur, serta menopang insang. Antena dan antenula merupakan organ sensor pada udang vannamei. *Maxilliped* pada bagian kepala (*thorax*) telah mengalami modifikasi dan berfungsi sebagai organ untuk makan (Muzahar, 2020).



Gambar 1. Morfologi udang vannamei (*L.vannamei*)
(Ramadani dkk., 2024)

2.2 *Vibrio* sp.

Bakteri *Vibrio* sp. merupakan bakteri Gram negatif, bersifat motil, oksidase positif, berbentuk sel tunggal, batang pendek bengkok atau lurus, berukuran panjang 1,4-5,0 μm dan lebar 0,3-1,3 μm , fermentatif terhadap glukosa, berpendar dan mempunyai flagela di salah satu kutubnya, tidak membentuk asam dari glukosa dan dapat menggunakan sukrosa sebagai sumber energinya (Gusman, 2012). *Vibrio* sp. merupakan salah satu bakteri yang paling lazim ditemukan di air laut dan air permukaan. Bakteri ini juga dapat hidup di salinitas yang relatif tinggi. *Vibrio* sp. tumbuh optimal pada pH 6,5-8,5 atau kondisi alkali dengan pH 9. *Vibrio* sp. yang patogen dapat hidup di bagian tubuh organisme lain baik di luar tubuh dengan jalan menempel, maupun pada organ tubuh bagian dalam seperti usus. *Vibrio* sp. merupakan salah satu penyebab penyakit vibriosis yang banyak menyerang larva udang vannamei (Riana dkk., 2021). Pada umumnya bakteri *Vibrio* sp. bersifat patogen yaitu dalam kondisi lingkungan (kualitas air) yang buruk dapat menyerang dan mematikan larva (Gusman, 2012).

Klasifikasi bakteri *Vibrio* sp. berdasarkan taksonomi yang dikemukakan oleh (Jawetz dkk., 2007) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Bacteria
 Divisio : Proteobacteria
 Class : Gammaproteobacteria
 Order : Vibrionales
 Family : Vibrionaceae
 Genus : *Vibrio*
 Species : *Vibrio* sp.

2.3 Vibriosis

Vibriosis merupakan penyakit pada budidaya udang vannamei yang disebabkan oleh *Vibrio* sp.. Bakteri ini adalah patogen oportunistik yang ditemukan di lingkungan budidaya dan berhubungan dengan udang atau ikan laut. Jika kondisi udang menurun, bakteri ini bisa bersifat patogen. Saat terjadi wabah, populasi bakteri ini meningkat ribuan kali lipat sehingga menyebabkan 100% kematian udang. Oleh karena itu, tindakan pencegahan harus dilakukan sebelum udang tertular penyakit ini (Widarnani dkk., 2012).

Penyakit vibriosis merupakan masalah utama di bidang akuatik dan merupakan salah satu faktor yang menghambat produksi berkelanjutan. Bakteri *Vibrio* sp. menyerang dengan cara merusak eksoskeleton yang tersusun dari kalsium karbonat (CaCO_3), karbohidrat, dan protein, selain itu bakteri tersebut dapat menyerang lewat insang dan sistem pencernaan. Bagian utama tubuh udang yang terserang bakteri *Vibrio* sp. adalah organ dalam. Gejala normal muncul pada vibriosis seperti warna badan merah, nafsu makan hilang, pergerakan yang buruk, dan berenang menyamping. Kemudian adanya tanda-tanda munculnya hepatopankreas terlihat warna menjadi coklat, geripis pada ekor dan kaki renang, cangkang udang kosong, dan pada

serangan berat hepatopankreas berubah menjadi hitam kecokelatan, dan pada malam hari bersinar. Hepatopankreas yang rusak tidak dapat berfungsi normal. Hal ini menyebabkan udang melemah dan akhirnya mati (Rozik, 2014). Tingginya tingkat patogenitas *Vibrio* sp. disebabkan oleh kemampuan bakteri untuk mensintesis tiga enzim eksotoksin dengan potensi yang berbeda-beda (Wijayanti, 2017).

Enzim hemolisin merupakan eksotoksin yang bertanggung jawab terhadap penyerapan sel darah merah atau proses hemolisis sel darah. Enzim girase mengganggu sintesis DNA sel inang, dan enzim Tox R terlibat dalam pengaturan ekspresi gen untuk dua enzim eksotoksin. Kombinasi ketiga enzim eksotoksin ini terbukti dapat melumpuhkan sistem kekebalan tubuh organisme yang terinfeksi. Kelimpahan *Vibrio* sp. lebih dari $1,4 \times 10^4$ CFU/ml berbahaya bagi udang karena dapat menyebabkan kematian udang. Potensi patogenik bakteri *Vibrio* sp. dengan kepadatan 10^5 CFU/ml dapat bersifat patogen. Namun tingkat virulensi yang ditimbulkan oleh *Vibrio* sp. berbeda-beda. Beberapa galur inokulasi *Vibrio* sp. memerlukan konsentrasi tinggi untuk menghasilkan gejala seperti penyakit, tetapi beberapa galur inokulasi *Vibrio* sp. memerlukan konsentrasi serendah 10^2 CFU/ml untuk mematikan udang. Virulensi *Vibrio* sp. patogen bukan karena kemampuannya mensintesis eksotoksin, tetapi dipengaruhi oleh karakteristik inangnya, meliputi spesies, umur, dan kondisi spesies tersebut (Kurniawan dkk., 2014).

2.4 Aktinomisetes

Aktinomisetes merupakan prokariota yang memiliki nilai ekonomis dan bioteknologi tinggi karena kemampuannya menghasilkan berbagai metabolit sekunder yang bermanfaat, berupa antitumor, anti mikroba, dan agen immunosupresi (Suloi dan Suhartini, 2022). Aktinomisetes merupakan bakteri Gram positif, berbentuk seperti filamen, membentuk spora dan dapat tumbuh pada suhu antara 25 °C– 30 °C (Hasyim dan Tulak 2013). Aktinomisetes

merupakan kelompok bakteri yang terdistribusi luas di tanah, serasah, air, dan sumber-sumber alami yang lain. Bakteri ini memiliki metabolit sekunder yang luas dan menghasilkan sekitar dua pertiga antibiotik yang digunakan pada pengobatan klinis saat ini (Barka dkk., 2016). Sekitar 70% antibiotik yang sudah ditemukan sampai saat ini yang diisolasi dari aktinomisetes, di mana sebagian besar berasal dari galur *Streptomyces*. Senyawa metabolit dari aktinomisetes telah cukup banyak yang sudah dikomersialkan. Sebagai contoh senyawa metabolit yang sudah dikenal yaitu flavonoid, alkaloid, dan saponin (Kamjam dkk., 2017). Aktinomisetes dapat dijumpai dan tumbuh pada tanah pekarangan serta perkebunan dengan karakteristik humus, kering, lebih dingin, dan di sekitar akar tumbuhan (Pujiati, 2014).

Klasifikasi dari aktinomisetes adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
 Filum : Actinobacteria
 Class : Actinobacteria
 Ordo : Actinomycetales
 Family : Actinomycetaceae
 Genus : *Actinomyces*
 Spesies : *Actinomyces* sp.

Aktinomisetes adalah organisme tanah yang memiliki sifat-sifat yang umum dimiliki oleh bakteri dan jamur tetapi juga mempunyai ciri khas yang cukup berbeda. Pada lempeng agar, aktinomisetes dapat dibedakan dengan mudah dengan bakteri pada umumnya. Tidak seperti koloni bakteri pada umumnya yang jelas berlendir dan tumbuh dengan cepat, koloni aktinomisetes muncul perlahan menunjukkan konsistensi berbubuk dan melekat erat pada permukaan agar. Pengamatan yang diteliti pada suatu koloni di bawah mikroskop yang membentuk spora aseksual untuk perkembangbiakannya (Mutmainnah, 2013). Berdasarkan hasil pengamatan Sulistyani dan Akbar (2014), koloni isolat aktinomisetes yang muncul memperlihatkan bentuk pada umumnya yaitu bulat dengan elevasi timbul dan cembung, tepian rata dan

tidak beraturan serta permukaan yang licin dan kasar atau keriput.

Aktinomisetes awalnya dinamakan “ray fungi”. aktinomisetes tumbuh dalam bentuk filamen miselium dan membentuk spora. Ada dua hal penting untuk membedakan antara fungi dengan aktinomisetes, yakni : 1). Aktinomisetes tidak mempunyai nukleus, sehingga dimasukkan prokariotik, 2). Bentuk hifa aktinomisetes dengan diameter $0,5\ \mu\text{m}$ – $1,0\ \mu\text{m}$, sehingga lebih kecil dari hifa jamur ($3\ \mu\text{m}$ – $8\ \mu\text{m}$ diameternya) (Mutmainnah, 2013).

Untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder dari aktinomisetes umumnya dilakukan fermentasi. Fermentasi aktinomisetes adalah proses di mana mikroorganisme aktinomisetes digunakan untuk menghasilkan zat metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai antimikroba. Proses ini memerlukan medium fermentasi yang mendukung pertumbuhan bakteri, seperti zat karbon dan mineral. Dalam proses fermentasi aktinomisetes ada beberapa hal yang perlu diperhatikan seperti pH yang sesuai, waktu fermentasi, untuk mendapatkan jumlah senyawa metabolit sekunder yang maksimal fermentasi dapat dilakukan selama beberapa hari. Selain itu diperlukan homogenitas yang tinggi, sehingga diperlukan *incubator shaker* selama proses fermentasi aktinomisetes (Faruqi, dkk., 2023).

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Aktivitas antibakteri dapat dipelajari menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi, dan metode difusi agar. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk analisis aktivitas antibakteri. Ada 3 cara dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, metode cakram, dan metode silinder. Prinsip kerja metode difusi adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat di mana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pratiwi, 2008).

Metode difusi menggunakan cakram dilakukan dengan cara kertas cakram sebagai media untuk menyerap bahan antimikroba dijenuhkan ke dalam bahan uji. Setelah itu kertas cakram diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, kemudian diinkubasikan selama 18-24 jam pada suhu tertentu. Area atau zona hambat di sekitar kertas cakram diamati untuk menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Diameter area atau zona hambat sebanding dengan jumlah mikroba uji yang ditambahkan pada kertas cakram (Bonang, 1992). Kelebihan dari metode cakram yaitu dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram (Listari, 2009). Adapun kategori zona hambat menurut (Mayasari dkk., 2023) terbagi menjadi 4 kategori yaitu kategori sangat kuat (diameter ≥ 20 mm), kategori kuat (diameter 10-20 mm), kategori sedang (diameter 5-10 mm), dan kategori lemah (diameter ≤ 5 mm).

Metode dilusi dibagi menjadi dua yaitu dilusi cair yang digunakan untuk mengukur KHM (kadar hambat minimum) sementara metode dilusi padat digunakan untuk menentukan KBM (kadar bunuh minimum). Cara yang dilakukan pada metode dilusi cair adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Metode dilusi padat dilakukan dengan menginokulasi mikroba uji pada media agar yang mengandung agen antimikroba. Keuntungan metode dilusi ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji (Pratiwi, 2008). KHM merupakan konsentrasi antibiotik terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu (Harmita, dan Radji, 2016). KHM ditentukan dengan mengamati kekeruhan dan kejernihan dari masing-masing medium uji yang telah diinkubasi dan dibandingkan dengan larutan kontrol media. Konsentrasi paling rendah yang menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri ditandai dengan jernihnya medium uji (Fitriana dkk., 2020).

2.6 HPLC preparatif

High Performance Liquid Chromatography (HPLC) merupakan suatu teknik analisis kromatografi dengan menggunakan tekanan tinggi yang berguna untuk pemisahan ion atau molekul terlarut dalam suatu larutan. Teknik ini berkembang untuk mengatasi kelemahan-kelemahan pemisahan pada kromatografi gas seperti senyawa yang relatif tidak tahan panas dan senyawa yang tidak volatil. HPLC berdasarkan kepolaran kolomnya dibagi menjadi dua fase yaitu normal (*normal phase*) dan terbalik (*reverse phase*).

Kromatografi fase normal menggunakan fase diam yang lebih polar daripada fase gerak. Kromatografi fase terbalik menggunakan fase gerak yang lebih polar daripada fase diam. Proses pemisahan campuran komponen terjadi di dalam kolom yaitu berdasarkan perbedaan distribusi masing-masing komponen pada fase diam dan fase gerak. Zat-zat yang berinteraksi kuat dengan fase diam akan tertahan lebih lama dalam kolom sedangkan yang berinteraksi lemah akan keluar dengan cepat dari kolom. Instrumen HPLC terdiri atas sistem eluen yaitu fase gerak, sistem tekanan yaitu pompa, injeksi larutan sampel, kolom, dan sistem deteksi yang berupa detektor. Sistem eluen pada HPLC dapat menggunakan berbagai macam pelarut, biasanya air dan pelarut organik. Eluen yang digunakan dapat berupa pelarut tunggal atau campuran dari dua atau lebih pelarut. Sistem tekanan pada HPLC menggunakan pompa bertekanan tinggi (Ramdhan, 2012).

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2024 - Februari 2024, di Laboratorium Mikrobiologi dan Laboratorium Kimia Analisis, Laboratorium Bioteknologi, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) KST B.J. Habibie Serpong.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Adapun alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

3.2.1 Alat Penelitian

Penelitian membutuhkan *Laminar Air Flow*, HPLC preparatif, autoklaf, *rotary evaporator*, sentrifus, inkubator 30 °C, inkubator *shaker*, kulkas, sonikator, vorteks, pH meter, timbangan digital, oven, *waterbath*, magnetik *stirer*, *vacuum concentrator*, Erlenmeyer 250 ml, Erlenmeyer 500 ml, labu evaporator, cawan petri, tabung reaksi, tabung tutup ulir, gelas ukur, gelas beker 1.000 ml, mikropipet, jarum ose, mikrotube 1,5 ml, jangka sorong, pipet ukur, pipet tetes, pinset, *syringe* 100 µl.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bakteri *Vibrio* sp. dari udang vannamei, aktinomisetes koleksi BRIN KST B.J. Habibie serpong, media TSA (*Tryptone Soya Agar*) dan media TSB (*Tryptone Soya Broth*) sebagai media pertumbuhan bakteri,

media C sebagai media pertumbuhan aktinomisetes, NaCl 0,9%, metanol sebagai pelarut ekstrak dan kontrol negatif, etil asetat sebagai pelarut ekstraksi kultur aktinomisetes, alkohol 70% untuk sterilisasi, kloramfenikol 1 mg/ml sebagai kontrol positif, air RO, *ultra pure water*, standar McFarland, 0,5 kertas zebra, kertas cakram, acetonitril, asam trifluoroasetat (TFA), DMSO, KOH dan HCl untuk mengatur pH media C.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variabel bebas pada penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak kultur aktinomisetes, sedangkan variabel terikat penelitian ini adalah aktivitas hambat terhadap bakteri *Vibrio* sp. Penelitian ini menggunakan 5 mg/ml ekstrak aktinomisetes yang dilarutkan dalam metanol. Terdapat lima perlakuan yang terdiri dari konsentrasi ekstrak 2 µl, 10 µl, 25 µl, metanol 25 µl sebagai kontrol negatif, dan kloramfenikol 1mg/ml sebanyak 20 µl sebagai kontrol positif, masing-masing dengan dua ulangan terhadap bakteri *Vibrio* sp. dengan kepadatan 10^6 CFU/ml. Selanjutnya aktinomisetes diproduksi dengan melakukan fermentasi, kultur fermentatif diekstraksi menggunakan pelarut etil asetat. Nilai KHM ditentukan dengan membuat sepuluh seri pengenceran senyawa uji terhadap pertumbuhan *Vibrio* sp. Setelah itu, ekstrak difraksinasi menggunakan HPLC preparatif, dan setiap fraksi hasil fraksinasi diuji aktivitas antibakterinya.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

Pelaksanaan penelitian meliputi beberapa tahap, yaitu regenerasi dan perbanyakan bakteri *Vibrio* sp. pada media TSA dan TSB; penapisan aktivitas antibakteri ekstrak kultur aktinomisetes dengan metode difusi cakram serta

produksi ekstrak aktinomisetes aktif sebanyak 1,1 liter dengan fermentasi kultur kocok. Selanjutnya kultur fermentasi diekstraksi dengan pelarut etil asetat. Penetapan nilai KHM dilakukan dengan metode dilusi cair dengan 10 seri pengenceran. Fraksinasi ekstrak aktinomisetes dilakukan dengan menggunakan HPLC preparatif, dan kemudian fraksi yang didapat diuji aktivitas antibakterinya dengan metode difusi cakram.

3.4.1 Pembuatan Kultur Cair Bakteri Uji

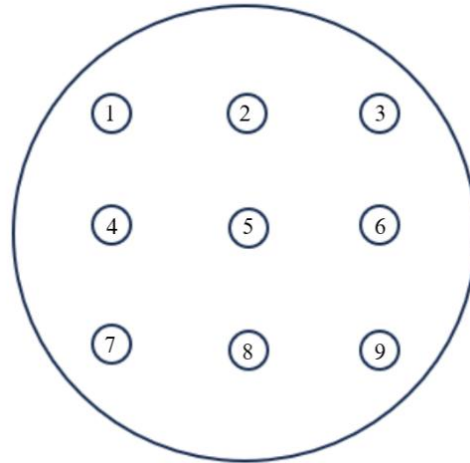
Bakteri *Vibrio* sp. pada media agar dengan kode galur V1, V4, dan E8.4-2 diinokulasi sebanyak 1 ose ke dalam Erlenmeyer 250 ml yang berisi media TSB sebanyak 20 ml, selanjutnya larutan diinkubasi dalam *incubator shaker* pada suhu 30 °C, kecepatan 180 rpm selama 48 jam.

3.4.2 Penapisan Antibakteri

Penapisan antibakteri memerlukan penyiapan ekstrak aktinomisetes koleksi BRIN KST B.J Habibie Serpong terlebih dahulu. Dua ekstrak ya disimpan dalam lemari pembeku di suhu -60 °C, yaitu yaitu a.T.8485, dan a.T.9400 dilarutkan dalam metanol dengan konsentrasi 5 mg/ml. Larutan kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks selama 20 detik dan disonikasi selama 20 menit. Setelah itu, ekstrak disentrifugasi selama 10 menit pada suhu 4 °C dengan kecepatan 13.000 rpm. Supernatan yang diperoleh dipindahkan ke mikrotube baru untuk tahap selanjutnya.

Kertas cakram dengan diameter 8 mm disiapkan, kemudian larutan ekstrak diteteskan ke masing-masing cakram dengan volume 2 µl, 10 µl, dan 25 µl. Sebagai kontrol, diteteskan 25 µl metanol (kontrol negatif) dan 20 µl kloramfenikol 1 mg/ml (kontrol positif). Media TSA disiapkan dalam 3 Erlenmeyer berkapasitas 250 ml, masing-masing berisi 20 ml media. Bakteri *Vibrio* sp. V1, V4, dan E8.4-2 dengan kepadatan 10⁸ CFU/ml, setara dengan standar McFarland 0,5 diinokulasi ke dalam media TSA dengan pengenceran 100 kali saat suhu media sekitar 40 °C - 50 °C. Media TSA yang sudah

diinokulasikan *Vibrio* sp. dengan kepadatan 10^6 CFU/ml kemudian dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai mengeras. Setelah mengeras, kertas cakram yang telah ditambahkan ekstrak disusun di atas agar dengan pola sebagai berikut :



Gambar 2. Susunan ekstrak saat uji aktivitas antibakteri

Keterangan :

- 1 = Metanol 25 μ l
- 2 = Kloramfenikol 20 μ l
- 3 = Kloramfenikol 20 μ l
- 4 = Ekstrak 2 μ l
- 5 = Ekstrak 2 μ l
- 6 = Ekstrak 10 μ l
- 7 = Ekstrak 10 μ l
- 8 = Ekstrak 25 μ l
- 9 = Ekstrak 25 μ l

Selanjutnya, cawan petri tersebut diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Setelah 24 jam, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong, dan hasil pengukuran dicatat. Kriteria pemilihan ekstrak yang akan dilanjutkan ke tahap produksi adalah ekstrak yang memiliki zona hambat yang paling besar, dan diproduksi oleh galur aktinomisetes yang memiliki pertumbuhan yang baik saat ditumbuhkan kembali dari kultur preservasi.

3.4.3 Produksi Ekstrak Aktinomisetes

Sebanyak 60 ml media C disiapkan sebagai media pertumbuhan aktinomisetes dan dibagi ke dalam 2 Erlenmeyer 250 ml. Isolat aktinomisetes kemudian diinokulasikan ke dalam tersebut dan diinkubasi selama 3 hari di *incubator shaker* pada suhu 28 °C dengan kecepatan 220 rpm. Setelah 3 hari, kultur vegetatif diinokulasikan masing-masing sebanyak 2 ml ke dalam 11 Erlenmeyer 500 ml masing-masing berisi 100 ml media C sebagai kultur fermentasi. Inkubasi dilanjutkan selama 7 hari dalam *incubator shaker* pada suhu 28 °C dan kecepatan 220 rpm. Setelah 7 hari inkubasi, kultur siap dipanen dengan menambahkan 100 ml pelarut etil asetat ke dalam masing-masing Erlenmeyer, kemudian dikocok dalam *incubator shaker* selama 1 jam. Selanjutnya, campuran disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 6.000 rpm. Lapisan atas (fase etil asetat) dipindahkan ke labu evaporasi dan dikeringkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang diperoleh dipindahkan ke botol, ditimbang (baik bobot kosong maupun bobot berisi ekstrak), dan disimpan dalam lemari pendingin hingga digunakan pada tahap selanjutnya.

3.4.4 Penetapan Nilai KHM (Kadar Hambat Minimum)

Penetapan nilai KHM memerlukan beberapa tahapan yaitu. Tahap pertama dilakukan persiapan mikroba uji. *Vibrio* sp. diinokulasikan ke dalam larutan NaCl 0,9% steril hingga kepadatannya 10^8 CFU/ml. Selanjutnya pembuatan seri pengenceran yaitu dengan menyiapkan 10 tabung yang masing-masing berisi 500 µl DMSO. Ekstrak a.T.8485 diencerkan dalam tabung pertama hingga memiliki konsentrasi 10 mg/ml (seri 1). Dari tabung seri 1, diambil 500 µl menggunakan mikropipet dan dipindahkan ke tabung seri 2. Langkah ini diulang hingga diperoleh sepuluh tabung dengan konsentrasi akhir 0,0195 mg/ml pada tabung seri 10. Media TSB sebanyak 250 ml disiapkan sebagai media pertumbuhan. Uji KHM dilakukan dengan memasukkan 1.880 µl media TSB, 20 µl suspensi mikroba uji dan 100 µl senyawa uji dari masing-masing seri

pengenceran (seri 1-10) ke dalam setiap tabung. Campuran tersebut kemudian dihomogenkan. Uji KHM dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Setelah itu, tabung-tabung diinkubasi pada suhu 30 °C, dan kekeruhannya diamati sebagai indikator pertumbuhan mikroba.

Tabel 1. Konsentrasi senyawa uji pada seri pengenceran

Seri Pengenceran	Konsentrasi (mg/ml)
1	10
2	5
3	2,5
4	1,25
5	0,626
6	0,312
7	0,156
8	0,078
9	0,039
10	0,0195

Pengamatan terhadap Kadar Hambat Minimum (KHM) didasarkan pada observasi visual terhadap pertumbuhan mikroba setelah perlakuan dengan seri pengenceran ekstrak atau antibiotik. Dalam pengujian KHM, dilakukan seri pengenceran secara bertingkat dari suatu senyawa uji (misalnya ekstrak antibakteri) dalam media cair yang kemudian diinokulasi dengan mikroba target (Fitriana dkk., 2020). Setelah inkubasi, larutan diamati apakah terjadi kekeruhan (indikasi adanya pertumbuhan) atau bening (tidak ada pertumbuhan) pada tiap tabung. KHM ditentukan sebagai konsentrasi terendah dari senyawa uji yang masih mampu menghambat pertumbuhan mikroba secara total, yaitu ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada media. Oleh karena itu, pengamatan KHM sangat bergantung pada urutan seri pengenceran yang sistematis dan teliti agar hasilnya akurat dan dapat dibandingkan antar perlakuan.

3.4.5 Fraksinasi Ekstrak Aktinomisetes

Fraksinasi ekstrak aktinomisetes dilakukan dengan menggunakan alat HPLC preparatif dengan cara menyuntikkan ekstrak aktinomisetes yang telah dilarutkan dalam metanol HPLC *grade*. Larutan yang terelusi setiap menit kemudian ditampung dalam tabung reaksi, dimulai dari menit ke-0 hingga menit ke-30. Seluruh fraksi yang telah ditampung dikeringkan dan disimpan hingga digunakan pada tahap berikutnya.

3.4.6 Uji Antibakteri Fraksi Hasil HPLC Preparatif

Sebanyak 30 sampel fraksi hasil HPLC preparatif dikeringkan menggunakan *vacuum concentrator*, kemudian dilarutkan dalam metanol. Larutan tersebut dihomogenkan menggunakan vorteks selama 20 detik dan disonikasi selama 20 menit. Kertas cakram disiapkan dan disusun lalu larutan fraksi diteteskan diatas cakram masing-masing dengan volume 5 μ l dan 20 μ l. Sebagai kontrol negatif diteteskan 20 μ l metanol sedangkan sebagai kontrol positif diteteskan larutan kloramfenikol 1 mg/ml dengan volume 5 μ l, 10 μ l, dan 20 μ l. Media TSA disiapkan dalam 3 Erlenmeyer 500 ml, masing-masing berisi 200 ml. Bakteri *Vibrio* sp. galur V1, V4, dan E8.4-2 dengan kepadatan 10^8 CFU/ml, setara dengan standar McFarland 0,5 diinokulasikan ke dalam media TSA dengan pengenceran 100 kali saat suhu media sekitar 40 °C - 50 °C. Media TSA yang mengandung *Vibrio* sp. dengan kepadatan 10^6 CFU/ml kemudian dituangkan ke dalam cawan petri dan dibiarkan sampai mengeras. Setelah media mengeras, kertas cakram yang sudah diteteskan larutan sampel disusun di atas permukaan agar sesuai dengan pola pada gambar 5. Seluruh cawan kemudian diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Setelah inkubasi, diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong, dan hasil pengukuran dicatat.

	MeOH		Kloram 1		Kloram 2		kloram 3		1A		1B		2A	
2B		3A		3B		4A		4B		5A		5B		6A
	6B		7A		7B		8A		8B		9A		9B	
10A		10B		11A		11B		12A		12B		13A		13B
	14A		14B		15A		15B		16A		16B		17A	
17B		18A		18B		19A		19B		20A		20B		21A
	21B		22A		22B		23A		23B		24A		24B	
25A		25B		26A		26B		27A		27B		28A		28B
	29A		29B		30A		30B							

Gambar 3. Susunan sampel fraksi hasil HPLC dalam petri uji aktivitas antibakteri

Keterangan :

A= volume sampel 20 μ l

B= volume Sampel 5 μ l

3.5 Pengamatan

Pengamatan hasil uji aktivitas ekstrak kultur aktinomisetes terhadap *Vibrio* sp. dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk di sekeliling area kertas cakram yang sudah diberi ekstrak aktinomisetes menggunakan jangka sorong. Besarnya daerah hambat yang terbentuk disesuaikan dengan kriteria CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) yaitu bila daerah hambat ≥ 19 mm dikatakan sensitif dan bila daerah hambat ≤ 14 mm maka dikatakan resisten, sedangkan antara 14 mm sampai 19 mm dikatakan intermediet terhadap pertumbuhan bakteri (Jennings, Spring B, 2009).

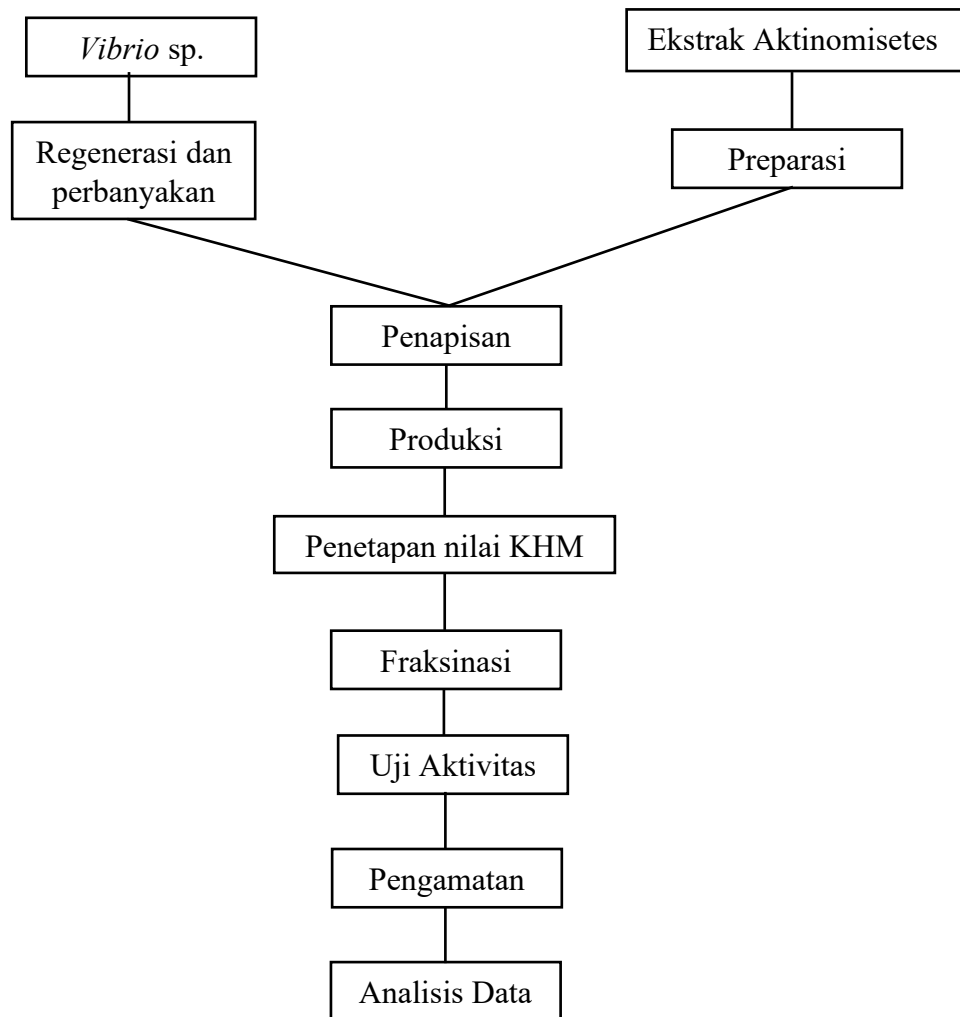
KHM ditentukan dengan mengamati kekeruhan dan kejernihan dari masing-masing medium uji yang telah diinkubasi dan dibandingkan dengan larutan kontrol media. Konsentrasi paling rendah yang menunjukkan penghambatan

pertumbuhan bakteri ditandai dengan jernihnya medium uji (Fitriana dkk., 2020).

3.6 Analisis Data

Data zona hambat pada penelitian ini dianalisis menggunakan SPSS. Analisis pendahuluan untuk uji normalitas dilakukan pada variabel diameter zona hambat. Hasil dari masing-masing diameter zona hambat akan dianalisis dengan *One Way Analysis of Variance* (ANOVA). Apabila data normal maka dilakukan uji lanjutan menggunakan uji Duncan.

3.7 Diagram Alir



Gambar 4. Diagram alir penelitian

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Diperoleh ekstrak aktinomisetes dengan kode a.T.8485 yang aktif menghambat pertumbuhan *Vibrio* sp. galur V1, V4, dan E8.4-2 yang diisolasi dari udang vannamei.
2. Diketahui kadar hambat minimum (KHM) ekstrak aktinomisetes a.T.8485 terhadap pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. adalah 1,95 µg/ml.
3. Hasil fraksinasi ekstrak aktinomisetes a.T.8485 yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Vibrio* sp. adalah fraksi pada menit ke-11, menit ke-12, menit ke-13 dan menit ke-14.

5.2 Saran

Adapun saran pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukannya identifikasi morfologi dan molekuler lebih lanjut terhadap galur aktinomisetes penghasil ekstrak aktif.
2. Perlu dilakukan identifikasi lanjutan terhadap kandungan senyawa yang terkandung dalam ekstrak aktif misalnya dengan LCMS.
3. Perlu dilakukan isolasi dan karakterisasi senyawa aktif murni dari aktinomisetes a.T.8485 untuk studi aktivitas lebih lanjut.
4. Perlu dilakukan penelitian lanjutan terkait uji aktivitas dan aplikasi ekstrak aktinomisetes a.T.8485 terhadap bakteri *Vibrio* sp. pada udang secara *in vivo* untuk mengetahui efektivitas ekstrak aktinomisetes dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Vibrio* sp. yang merupakan patogen pada udang vannamei.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, M. S., Maria, I., Madyowati, M. K., dan Oetami, I. S. 2017. *Biodiversitas Plankton Pada Budidaya Polikultur Di Desa Sawohan Kecamatan Sedati Kabupaten Sidoarjo*.
- Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibnsouda, S. K. 2016. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2):71-79.
- Barka, E. A., Vatsa, P., Sanchez, L., Gaveau-Vaillant, N., Jacquard, C., Klenk, H. P., ... dan van Wezel, G. P. 2016. Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria. *Microbiology and molecular biology reviews*, 80(1), 1-43.
- Basir, B., Halimah, H., dan Kariyanti, K. 2023. Patogenitas dan Pengendalian Infeksi *Vibrio* sp. pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Menggunakan Ekstrak Daun Miana (*Coleus scutellarioides* (L) Benth). *Musamus Fisheries and Marine Journal*, 5(2), 9-16.
- Bonang, G. 1992. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan* Edisi 16. Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Chandrakala, N dan Menaka. R. 2017. Vibriosis - Detection And Pathology. *International Journal of Current Innovation Research*, 3: 622-626.
- Dianty, R., Ardiningsih, P., dan Rahman, B. A. 2015. Antimicrobial Activity of Actinomycetes Extract From Sea Water of Randayan Island, Bengkayang Againts *Salmonella* Sp.. *Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNTAN*. 3(1): 1-13.
- DwicaHyani, T., Sumardianto, S., dan Rianingsih, L. 2018. Uji bioaktivitas ekstrak teripang keling *Holothuria atra* sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 7(1): 15-24.
- Fadillah, N., Wasposito, S., dan Azhar, F. 2019. Penambahan Ekstrak daun mangrove *rhizophora apiculata* pada pakan udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) untuk Pencegahan Vibriosis. *Journal of Aquaculture Science*, 4(2), 91-101.

- Faruqi, M. F., Bahar, M., Yusmaini, H., dan Pramesyanti, A. 2023. Optimasi Lama Fermentasi Isolat Actinomycetes Terhadap Pertumbuhan *Trichophyton rubrum* Secara *In Vitro*. In *Seminar Nasional Riset Kedokteran* (Vol. 4, No. 1).
- Fitri, N. 2012. Antimicrobial Peptides sebagai Obat Alternatif pada Resistensi Antibiotik. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 62-67.
- Fitriana, Y. A. N., Fatimah, V. A. N., dan Fitri, A. S. 2020. Aktivitas anti bakteri daun sirih: uji ekstrak KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bakterisidal Minimum). *Sainteks*, 16(2).
- Gusman, E. 2012. Identifikasi Bakteri *Vibrio* Sp. Pada Udang Windu (*Penaeus Monodon*) di Tambak Tradisional Kota Tarakan. *Jurnal Harpodon Borneo*, 5(2).
- Harmita dan Radji M. 2016. *Buku Ajar Analisis Hayati*. Jakarta: EGC; p. 4.
- Hashary, A. R. 2021. Potensi Actinomycetes yang Diisolasi dari Rhizosfer Pinus (*Pinus merkusii*) Asal Desa Limapoccoe Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros sebagai Penghasil Antimikroba. *Jurnal Farmasi UIN Alauddin Makassar*. 9(2).
- Hasyim, A., dan Tulak, Y. F. 2013. Isolasi dan Karakterisasi Aktinomisetes Sebagai Penghasil Antibiotik Dari Sampel Tanah Pada Peternakan Sapi di Kecamatan Galesong Kabupaten Takalar. *Biogenesis: Jurnal Ilmiah Biologi*. 1(2):97-100.
- Heni, S. A., dan Zaharah, T. A. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak kulit batang belimbing hutan terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 4(1).
- Jawetz E, Melnick LJ dan Adelberg AE. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi ke-25. Terjemahan: Widi N. Jakarta: EGC.
- Jennings, Spring B. Metghicillin resistant *Staphylococcus aureus* (Avaible On line at <https://www.jci.org/cgi/content/full114/12/1993.htm>) (diakses oktober 2024).
- Kamjam, M., Sivalingam, P., Deng, Z., and Hong, K. 2017. Deep sea actinomycetes and their secondary metabolites. *Frontiers in Microbiology*. 8.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2022. *Profil Pasar Udang*. Jakarta: Direktorat Jenderal Penguatan Daya Saing Produk Kelautan dan Perikanan Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia.

- Kurniati, D. I., Ardiningsih, P., dan Nofiani, R. 2019. Isolasi dan Aktivitas Antibakteri Aktinomisetes Berasosiasi dengan Koral. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 8(2).
- Kurniawan, K., Tompo, A., and Kadriah, I.A.K. 2014. *Uji Patogenitas dan Gambaran Histologi Hepatopankreas Infeksi Bakteri Vibrio Patogen Secara Penyuntikan*. Prosiding Seminar Nasional Tahunan XI Hasil Perikanan dan Kelautan. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada 30 Agustus 2014.
- Listari, Y. 2009. Efektifitas Penggunaan Metode Pengujian Antibiotik Isolat *Streptomyces* dari Rizosfer familia poaceae terhadap *Escherichia coli*. *Jurnal online*, 1-6.
- Luthfiani, E. 2016. *Pengaruh Pengkayaan Artemia Sp Menggunakan Vitamin C Dengan Dosis Yang Berbeda Terhadap Bobot Mutlak, Sintasan Dan Tingkat Stres Salinitas Pasca Larva Udang Vaname (Litopenaeus vannamei)* (Doctoral dissertation, Universitas Muhammadiyah Gresik).
- Mali, M. C., Salosso, Y., dan Sunadji, S. 2023. Efektivitas rebusan daun kersen (*Muntingia calabura*) untuk pengobatan infeksi bakteri *Vibrio alginolyticus* pada ikan kerapu cantang (*Epinephelus* sp) menggunakan metode perendaman. *Jurnal Aquatik*, 6(1), 104-113.
- Masda NR. 2018. Potensi metabolit sekunder isolat actinomycetes sm-2 dari rizosfer andrographis paniculata sebagai penghasil senyawa antibakteri. Universitas Hassanudin.
- Maulana, R., Bahar, M., dan Nugrohowati, N. 2022. Efektivitas Isolat Actinomycetes dari Sampel Tanah Kebun Raya Bogor dalam Menghambat Pertumbuhan *Salmonella typhi* Secara In Vitro. In *Seminar Nasional Riset Kedokteran*. 3(1).
- Mayasari, V., Mahdiyah, D., Melviani, M., dan Nastiti, K. 2023. Aktivitas Antibakteri Akar Kayu Bangkal (*Nauclea subdita*) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Innovative: Journal Of Social Science Research*, 3(6), 8074-8085.
- Mutmainnah, m. 2013. *Isolasi actinomycetes dari tanah pembuangan limbah pabrik gula tebu (camming) bone sebagai penghasil antibiotika* (doctoral dissertation, universitas hasanuddin).
- Muzahar. 2020. *Teknologi dan Manajemen Budidaya Udang*. Umrah Press: Tanjungpinang.
- Nurjasmu, R., dan Suryani, S. 2017. Uji Antagonistik Actinomycetes Asal Limbah Kulit Bawang Merah Terhadap Patogen Tanaman. *Jurnal Ilmiah Respati*, 8(2).

- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., dan Puspitasari, R. 2022. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga telang (*Clitoria ternatea* L.) terhadap bakteri *staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 7(2), 57-68.
- Pratama, O. 2020. *Konservasi Perairan Sebagai Upaya menjaga Potensi Kelautan dan Perikanan Indonesia*. Kementerian Kelautan Dan Perikanan.
- Pratiwi, R. 2008. Perbedaan daya hambat terhadap *Streptococcus* mutans dari beberapa pasta gigi yang mengandung herbal. *Majalah Kedokteran Gigi*, 38(2): 64 - 67.
- Pujiati, P. 2014. Isolasi actinomycetes dari tanah kebun sebagai bahan petunjuk praktikum mikrobiologi. *Florea: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 1(2).
- Puspita, D., Gentaarinda, F. S., Lidi, I. M., Refla, S., Nugroho, N. W., dan Kusumaningtyas, F. T. 2021. Inovasi Cairan Penyanitasi Tangan Dari Bahan Alami. *Biosfer: Jurnal Biologi dan Pendidikan Biologi*. 6(1).
- Putri, A. M., Prayitno, S. B., Sarjito. 2015. Perendaman Berbagai Dosis Ekstrak Daun Bakau (*Rhizophora apiculata*) Untuk Pengobatan Kepiting Bakau (*Scylla serrata*) Yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*. *Jornal of Aquaculture Management and Technology*, 4 (4): 141-149.
- Rahmawati, H., Bustanussalam, B., dan Simanjuntak, P. 2009. Identification of a Triterpenoid Saponin from Seeds of *Barringtonia asiatica* (L.) Kurz. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 7(1): 31–37.
- Ramadani, M., Salsabila, S., Ratna M, R. M., Iskandar, A. S., Hajirah, R. N., Azani, S. A., dan Putri, N. E. 2024. *Teknik Budidaya Udang Vaname Skala Super Intensif*. Perpustakaan Universitas Negeri Makassar : Makassar
- Ramdhan, I.N. 2012. *Profil protein terlarut pada berbagai pelarut dari 7 macam kacang-kacangan*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Riana, H., Supono, S., and Setyawan, A. 2021. Molecular Identification And Local Isolate Bacterial Activity Test As Biocontrol Candidates To Tackle *Vibrio* Spp Infections At Vannamei Shrimp Cultivation (*Litopenaeus Vannamei*) In East Lampung. *e-Jurnal Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, 9(2), 1131-1142.
- Rozik, M. 2014. Pengaruh Imunostimulan OMP terhadap Histopatologi Hepatopankreas Udang Windu (*Peneus monodon fabricus*) pasca Uji Tantang dengan *Vibrio harveyi*. *Journal of Tropical Fisheries*, 10 (1), 750-755

- Sulistiyani, N., dan Akbar, A. N. 2014. Aktivitas isolat actinomycetes dari rumput laut (*Eucheuma cottonii*) sebagai penghasil antibiotik terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal ilmu kefarmasian Indonesia*, 12(1), 1-9.
- Suloi, A. F., dan Suhartini, W. 2022. Eksplorasi Bakteri Aktinomisetes Asli Papua Barat Sebagai Pewarna Makanan Alami dan Antimikroba. *G-Tech: Jurnal Teknologi Terapan*. 6(2):142-148.
- Suprpto, H., Sudarno, S., dan Tito, I. M. 2016. Isolasi dan identifikasi bakteri kitinolitik yang terdapat pada cangkang lobster air tawar (*Cherax quadricarinatus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*.
- Susilowati, D. N., Hastuti, R. D., dan Yuniarti, E. 2007. Isolasi dan karakterisasi aktinomisetes penghasil antibakteri enteropatogen *Escherichia coli* K1. 1, *Pseudomonas pseudomallei* 02 05, dan *Listeria monocytogenes* 5407. *Jurnal AgroBiogen*. 3(1): 15-23.
- Widarnani, Widagdo, P., and Wahjuningrum, D. 2012. Aplikasi Probiotik, Prebiotik, dan Sinbiotik Melalui Pakan pada Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) yang Diinfeksi Bakteri *Vibrio harveyi*. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 11 (1), 54-63.
- Wijayanti, A. 2017. Efektivitas pemberian bakteri probiotik *Bacillus* Sp.D2.2 dan ekstrak ubi jalar sebagai sinbiotik terhadap serangan bakteri *Vibrio harvei* pada udang vaname (*Litopenaeus vannamei*). Skripsi. Universitas Lampung. Lampung.
- Wyban, J. A., and Sweeney, J. N. 1991. Intensive Shrimp Production Technology. *The Oceanic Institute*, 158