

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA AKTINOMISETES *Streptomyces tritolerans*
(19B19A1) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN**

(Skripsi)

Oleh

**SABINA CLARISSA LANG NEGARA
NPM 2117011063**



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

ABSTRAK

AKTIVITAS ANTIMIKROBA AKTINOMISETES *Streptomyces tritolerans* (19B19A1) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN

Oleh

Sabina Clarissa Lang Negara

Resistensi antimikroba (AMR) merupakan fokus penting dalam dunia kesehatan global, yang mendorong eksplorasi sumber senyawa antibakteri baru dari aktinomisetes laut. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* 19B19A1 yang diisolasi dari tunikata, dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Produksi metabolit dilakukan melalui proses fermentasi padat (SSF) menggunakan limbah kulit udang selama 14 hari menghasilkan ekstrak kasar metabolit sekunder. Ekstrak kasar tersebut kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi kolom dan menghasilkan fraksi 1- fraksi 5.

Uji aktivitas antibakteri dengan metode mikrotiter 96-well plate menunjukkan bahwa pada konsentrasi 2 mg/mL masing-masing fraksi tersebut aktif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, kemudian hasil uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) menunjukkan bahwa fraksi 3 (B19F3) memiliki aktivitas penghambatan paling kuat terhadap *Staphylococcus aureus*, dengan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi terendah, yaitu 0,062 mg/mL.

Analisis LC-MS/MS untuk fraksi aktif B19F3 menunjukkan pada puncak utama dengan waktu retensi 15,28 menit dengan m/z 637,3106 memiliki ion puncak molekul $[M+H]^+$, senyawa ini memiliki rumus molekul $C_{36}H_{48}N_2O_8$ dan setelah dianalisis di database Chemspider, senyawa ini merupakan senyawa Ansatrienin A, antibiotik makrolida aromatik golongan *ansamycin*. Hasil ini menunjukkan bahwa aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* 19B19A1 mampu memproduksi senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri resisten yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Kata kunci: Aktinomisetes, *Streptomyces tritolerans*, Kulit Udang, Antibakteri, Senyawa Metabolit Sekunder.

ABSTRACT

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE ACTINOMYCETES *Streptomyces tritolerans* (19B19A1) AS ANTIBACTERIAL AGAINST RESISTANT PATOGENS

By

Sabina Clarissa Lang Negara

Antimicrobial resistance (AMR) is a major focus in global health, driving the exploration of new antibacterial compounds from marine actinomycetes. This study aims to obtain secondary metabolites produced by the actinomycete isolate *Streptomyces tritolerans* 19B19A1, isolated from tunicates, to inhibit the growth of pathogenic bacteria. Metabolite production was carried out via solid-state fermentation (SSF) using shrimp shell waste over 14 days, yielding a crude extract of secondary metabolites. The crude extract was then analyzed using thin-layer chromatography (TLC) and purified via column chromatography, yielding fractions 1–5. Antibacterial activity testing using the 96-well plate microtiter method showed that at a concentration of 2 mg/mL, each fraction actively inhibited the growth of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. and the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) test results showed that fraction 3 (B19F3) had the strongest inhibitory activity against *Staphylococcus aureus*, with the ability to inhibit bacterial growth at the lowest concentration, namely 0.062 mg/mL. LC-MS/MS analysis of the active fraction B19F3 showed a main peak at a retention time of 15.28 minutes with m/z 637,3106, having a molecular peak ion $[M^+H]^+$, this compound has the molecular formula $C_{36}H_{48}N_2O_8$, and after analysis in the Chempider database, this compound is identified as Ansatrienin A, an aromatic macrolide antibiotic belonging to the ansamycin group. These results indicate that the actinomycete *Streptomyces tritolerans* 19B19A1 is capable of producing secondary metabolites as bioactive compounds with strong activity in inhibiting the growth of resistant bacteria, specifically *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*.

Keywords: Actinomycetes, *Streptomyces tritolerans*, Shrimp Shell, Antibacterial, Secondary Metabolite Compounds.

**AKTIVITAS ANTIMIKROBA AKTINOMISETES *Streptomyces tritolerans*
(19B19A1) SEBAGAI ANTIBAKTERI TERHADAP PATOGEN RESISTEN**

Oleh

SABINA CLARISSA LANG NEGARA

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 : **AKTIVITAS ANTIMIKROBA
AKTINOMISETES *Streptomyces tritolerans*
(19B19A1) SEBAGAI ANTIBAKTERI
TERHADAP PATOGEN RESISTEN**

Nama : **Sabina Clarissa Lang Negara**

Nomor Pokok Mahasiswa : **2117011063**

Jurusan : **Kimia**

Fakultas : **Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



1. Komisi Pembimbing


Prof. Drs. John Hendri., M.S., Ph.D.
NIP. 19580211987031001


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

: Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si.

.....



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



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

Tanggal Lulus Ujian Skripsi: 05 Agustus 2025

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Sabina Clarissa Lang Negara
NPM : 2117011063
Jurusan : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Perguruan Tinggi : Universitas Lampung

Dengan ini menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi saya yang berjudul "**Aktivitas Antimikroba Aktinomisetes *Streptomyces tritorelans* (19B19A1) Sebagai Antibakteri Terhadap Patogen Resisten**" 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, 18 Agustus 2025
Yang Menyatakan,



Sabina Clarissa Lang Negara
NPM. 2117011063

RIWAYAT HIDUP



Sabina Clarissa Lang Negara lahir di Bandar Lampung pada 21 Oktober 2003. Penulis adalah anak terakhir dari tiga bersaudara yang berasal dari orang tua yang sangat luar biasa, yaitu pasangan Ayah Dirwantoni Langnegara dan Bunda Dra. Nursyamsiah.

Penulis menyelesaikan pendidikan Taman Kanak-Kanak TK Mekar Wangi pada tahun 2009, kemudian melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar di UPT SDN 17 Tegineneng dan lulus pada tahun 2015. Melanjutkan pendidikan Sekolah Menengah Pertama pada tahun 2015-2018 di SMP Negeri 1 Adiluwih, Pringsewu dan Sekolah Menengah Atas di SMA Negeri 15 Bandar Lampung pada tahun 2018-2021.

Penulis diterima sebagai mahasiswa Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA), Universitas Lampung (Unila) melalui jalur Seleksi Bersama Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SBMPTN) pada tahun 2021. Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam Himpunan Mahasiswa Kimia (Himaki) Jurusan Kimia FMIPA Unila sebagai anggota Bidang Sosial Masyarakat (SOSMAS) periode 2022/2023. Penulis menyelesaikan praktik kerja lapangan (PKL) di Laboratorium Kimia Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BUSKIPM) Jakarta, dengan judul “Pengujian Logam Berat Merkuri (Hg) pada Ikan Kakap Merah (*Lutjanus campechanus*) Menggunakan *Atomic Absorption Spectrofotometry* (AAS) di Balai Uji Standar Karantina Ikan, Pengendalian Mutu dan Keamanan Hasil Perikanan (BUSKIPM) Jakarta”. Penulis melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) Periode I tahun 2024 selama 40 hari pada bulan Januari-Februari 2024 di Desa Gebang, Kecamatan Teluk Pandan, Kabupaten Pesawaran, Lampung. Pada bulan Januari-

Juli 2025, penulis menyelesaikan penelitian yang dilakukan di Unit Pelaksana Analisis (UPA) Laboratorium Terpadu, Universitas Lampung dan Laboratorium Biopolimer, Universitas Lampung dengan judul “**Aktivitas Antimikroba Aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* (19B19A1) Sebagai Antibakteri Terhadap Patogen Resisten**”.

MOTTO

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

"Boleh jadi kamu membenci sesuatu, padahal ia amat baik bagimu, dan boleh jadi (pula) kamu menyukai sesuatu, padahal ia amat buruk bagimu. Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui."

(QS. Al-Baqarah: 216)

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

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

"Life can be heavy, especially if you try to carry it all at once. Part of growing up and moving into new chapters of your life is about catch and release."

~Taylor Swift~

"The scary news is, you're on your own now. But the cool news is, you're on your own now"

~Taylor Swift~

Kita menangis di perjalanan pulang. Mencari jalan tak pernah sampai tujuan.

Terlanjur hangus, terburai, dan berantakan "

~Nadin Amizah~

PERSEMBAHAN



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

Kedua Orang Tuaku Tercinta **Ayah Dirwantoni Langnegara** dan **Bunda Dra.**

Nursyamsiah yang senantiasa memberi dukungan dan kasih sayangnya kepadaku, serta doa yang dihaturkan untuk mengiringi setiap langkahku. Semoga Allah SWT hadiahkan Jannah-Nya, Aamiin yaa Robbal’alamin.

Kakakku tersayang, **Uni Silvia Rosa Intan Lang Negara** dan **Ahi Insan Kahfi Lang Negara** yang telah mendoakan dan memberikan dukungan dalam segala hal. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan keberkahan dan kebahagiaan ditengah keluarga ini.

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, mendidik, dan memberikan banyak ilmu kepada penulis selama menjalani proses pendidikan sarjana.

Dan untuk;

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 yaumul akhir nanti, aamiin yarabbal'alamin. Skripsi ini berjudul "**Aktivitas Antimikroba Aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* (19B19A1) Sebagai Antibakteri Terhadap Patogen Resisten**", 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, sandaran terkuat di hidup. Ayah Dirwantoni Langnegara dan Bunda Dra. Nursyamsiah, terima kasih telah memberikan bentuk cinta, kasih sayang, melangitkan doa-doa baik yang tiada putus untuk penulis, dan materi tanpa henti selama masa studi penulis, serta menjadi motivasi dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik. Kepada bunda, terima kasih karena sudah menjadi alasan penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan menjalani kehidupan ini dengan kuat.
2. Kedua kakakku tersayang, Uni Silvia Rosa Intan Lang Negara dan Ahi Insan Kahfi Lang Negara yang telah mendengarkan keluh kesah penulis, menemani, mendukung, memberikan nasihat, doa serta menjadi penyemangat untuk penulis.

3. Bapak Prof. Drs. John Hendri., M.S., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing 1, atas segala bimbingan, dukungan, motivasi, waktu, arahan dan kesabarannya yang diberikan kepada 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. Ibu Dr. Yuli Ambarwati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan ilmu, arahan, kritik, dan saran kepada penulis sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan lancar.
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 Unila.
9. Ibu Dr. Ni Luh Gede Ratna Juliasih, 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. Staff, laboran, dan karyawan Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan bantuan kepada penulis.
12. Kak Fendi Setiawan, terima kasih atas bimbingan, bantuan, ilmu, motivasi, kritik, dan saran yang telah diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi ini dengan lancar.
13. Kakak-kakak *JH Research*, Kak Laras, Kak Irfan, Kak Ester, Kak Alda, Kak Jordy, atas segala bantuan, arahan, dan ilmu yang diberikan kepada penulis selama masa penelitian dan penyusunan skripsi ini, sehingga dapat terselesaikan dengan baik.
14. *JH Research* 21, Alysha, Nida, Iwan, dan Gita, sebagai rekan seperbimbingan dan seperjuangan dalam penelitian, yang telah banyak membantu,

memberikan dukungan, serta bekerja sama dengan penulis, sehingga penelitian dan skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik.

15. Teman-teman dan Kakak-kakak Laboratorium Unit Pelaksana Analisis (UPA) Laboratorium Terpadu, Universitas Lampung, atas segala bantuan dan kerjasama selama penelitian.
16. Teman-teman Kimia 2021, atas segala bantuan dan kerjasama selama menjadi mahasiswa jurusan kimia.
17. Kimia B 2021, yang telah membersamai penulis melewati semester demi semester selama perkuliahan.
18. Kepada keponakan-keponakan tercinta, Zunaira Ratu Mecca dan Air Rumi Elfatir Lang Negara, terimakasih atas kelucuan-kelucuan kalian yang membuat penulis semangat dan selalu membuat penulis senang.
19. Sahabat +7 tersayang, Sefty Yustisia S, S.Si., Amelia Normalita, S.Si., Alysha Mutiara S, S.Si., Rahmadina Pratiwi, S.Si., Yesha Pramudita, S.Si., dan Azzahra Sandra S, S.Si., terima kasih sudah berjuang bersama sejak semester awal perkuliahan sampai sekarang, menjadi sumber kebahagiaan dan penyemangat penulis dengan memberikan semangat, hiburan tiada henti sehingga kehidupan perkuliahan penulis lebih menyenangkan.
20. Sahabat-sahabat “*Successful Together*”, Silvi, Sovie, Popi, Jernita, dan Gilang, yang sudah menjadi pendengar yang baik atas cerita suka dan duka serta selalu memberikan dukungan yang tiada henti kepada penulis. Terima kasih banyak selalu menghibur penulis dengan segala tingkah lucu.
21. Rasa terima kasih penulis sampaikan kepada sahabat sekaligus yang penulis anggap sebagai saudara, Sefty Yustisia Sandjaya, S.Si, sudah menjadi *partner* bertumbuh di segala kondisi dan tempat berkeluh kesah yang senantiasa menemani penulis dalam keadaan sulit maupun senang.
22. Kepada yang tak kalah penting kehadirannya Bagas Satrio, yang menjadi nyala semangat di tengah letih, sumber kekuatan saat harapan mulai redup, serta lautan ide dan inspirasi yang tak pernah kering. Terima kasih telah menjadi bagian dari perjalanan hidup penulis. Berkontribusi banyak dalam penulisan skripsi ini, baik tenaga, waktu, maupun materi kepada penulis. Terima kasih atas kebersamaan, dukungan tanpa henti, dan kehadiran yang

senantiasa menyertai langkah penulis sejak masa perkuliahan hingga akhirnya skripsi ini dapat terselesaikan.

23. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungan dalam berbagai bentuk selama proses penyusunan skripsi ini.
24. Sabina Clarissa Lang Negara, diri saya sendiri. Apresiasi sebesar-sebesarnya yang telah berjuang untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai. Sulit bisa bertahan sampai dititik ini, terima kasih untuk tetap hidup dan merayakan dirimu sendiri, walaupun sering kali putus asa atas apa yang sedang diusahakan. Tetaplah jadi manusia yang mau berusaha dan tidak lelah untuk mencoba. *God thank you for being me independent woman, i know there are more great ones but i'm proud of this achievement.*

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, 18 Agustus 2025

Penulis,

Sabina Clarissa Lang Negara

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	VII
DAFTAR GAMBAR.....	VIII
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	2
1.3 Manfaat Penelitian.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Perairan Indonesia	4
2.2 Perairan Gorontalo.....	5
2.3 Aktinomisetes	6
2.4 Aktinomisetes Biota Laut.....	8
2.5 Aktinomisetes Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba.....	9
2.6 <i>Streptomyces sp.</i>	10
2.7 Kulit Udang	11
2.8 Kitin.....	12
2.9 Enzim Kitinase	13
2.10 Senyawa Metabolit Sekunder Aktinomisetes Laut.....	14
2.11 <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.12 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
2.13 <i>Solid State Fermentation</i> (SSF).....	17
2.14 Kromatografi.....	19
2.13.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	19
2.13.2 Kromatografi Kolom	21
2.15 Aktivitas Antibakteri	23
2.16 <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry</i> (LC MS/MS).....	24
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	27
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	27
3.2 Alat dan Bahan	27

3.3	Prosedur Penelitian	28
3.3.1	Pembuatan Media	28
3.3.1.1	Media Koloid Kitin Agar	28
3.3.1.2	Media Koloid Kitin Cair	29
3.3.1.3	Media <i>Mueller Hinton Agar</i> (MHA)	29
3.3.1.4	Media <i>Trytic Soy Broth</i> (TSB)	29
3.3.2	Biomaterial	30
3.3.2	Preparasi Media Tumbuh	30
3.3.2.1	Persiapan Kulit Udang	30
3.3.2.2	Pembuatan Koloid Kitin	30
3.3.3	Peremajaan Aktinomisetes 19B19A1	31
3.3.4	Identifikasi Aktinomisetes	31
3.3.5	Kultivasi (<i>Scale up</i>) dan Ekstraksi	31
3.3.6	Pemurnian Senyawa Bioaktif	32
3.3.7	Skrining Aktivitas Antibakteri	33
3.3.8	Karakterisasi dengan <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrophotometer</i> (LC-MS/MS)	34
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	35
4.1	Hasil Isolat Aktinomisetes	35
4.2	Hasil Kultivasi (<i>Scale up</i>) dan Ekstraksi	37
4.3	Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Aktinomisetes 19B19A1	38
4.4	Hasil Pemurnian Senyawa Bioaktif Ekstrak Aktinomisetes 19B19A1	40
4.5	Hasil Uji Aktivitas Antibakteri	43
4.6	<i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrophotometer</i> (LC-MS/MS)	47
V.	SIMPULAN DAN SARAN	50
5.1	Simpulan	50
5.2	Saran	50
	DAFTAR PUSTAKA	51
	LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Massa fraksi hasil pemurnian dengan kromatografi kolom	60

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Peta Kawasan Konservasi Perairan Indonesia.	4
2. Peta teluk Tomini, Gorontalo.....	5
3. Bentuk Rantai Spora dan Spora Aktinomisetes.	7
4. Struktur Kitin.	13
5. Skema langkah-langkah proses SSF.	18
6. Pemisahan sampel dengan kromatografi kolom	22
7. Reduksi resazurin menjadi resorufin	24
8. Prinsip LC–MS/MS	25
9. Isolat aktinomisetes 19B19A1 dalam media koloid kitin agar 1%.....	35
10. Morfologi mikroskopis isolat Aktinomisetes 19B19A1	36
11. (a) Inokulum isolat aktinomisetes 19B19A1; (b) Kultur dengan Media Kulit Udang; dan (c) Ekstraksi menggunakan EtOAc	38
12. KLT ekstrak kasar isolat 19B19A1 (a) UV 254 nm, (b) reagen Ce(SO ₄) ₂ , (c) reagen Dragendorff, (d) reagen ninhidrin	39
13. (a) Kolom kromatografi; dan (b) Profil KLT hasil kolom fraksi 1-12 (n- heksan:EtOAc) (1:1)) dengan reagen Ce(SO ₄) ₂	41
14. Hasil analisis KLT hasil re-kolom fraksi 1-5 (a) d UV 254 (b) UV 366 (c) reagen Ce(SO ₄) ₂ (d) reagen Dragendroff dan (e) reagen ninhidrin.....	42
15. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi 1-5 pada bakteri <i>S. aureus</i>	44
16. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi 1-5 pada bakteri <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	45
17. Hasil uji MIC terhadap bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	46
18. Spektrum LC-MS/MS Fraksi Aktif B19F3.....	48

19. Struktur senyawa pada waktu retensi 15,28 menit.....	49
20. Fraksi 1-fraksi 5 hasil pemurnian.....	60

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Resistensi antimikroba (AMR) saat ini menjadi fokus penting dalam dunia kesehatan global karena perannya yang signifikan terhadap efektivitas pengobatan. Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2021, infeksi akibat bakteri resisten menyebabkan sekitar 700.000 kematian setiap tahunnya dan diperkirakan meningkat menjadi 10 juta per tahun pada 2050 jika tidak ada penanganan yang efektif. Kegagalan pengobatan akibat resistensi antibiotik terhadap patogen seperti *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* mendorong perlunya pencarian antibiotik baru yang lebih efektif. Resistensi antibakteri merupakan kemampuan bakteri untuk mengurangi atau sepenuhnya menghilangkan respons terhadap antibakteri yang sebelumnya efektif dalam mengendalikan atau membunuh bakteri tersebut (Bayani dkk., 2023). Laporan menunjukkan bahwa beberapa strain bakteri juga telah mengembangkan resistensi terhadap obat-obatan tertentu (Al-Ansari *et al.*, 2020).

Beberapa studi menunjukkan bahwa aktinomisetes merupakan salah satu bakteri yang memiliki kemampuan dalam mendegradasi kulit udang untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder. Limbah udang (kepala dan kulit) merupakan salah satu sumber bahan baku yang mengandung kitin, protein, dan mineral, serta mudah diperoleh dalam jumlah besar (Rossi *et al.*, 2024). Produksi senyawa bioaktif dari aktinomisetes ini dipengaruhi oleh proses fermentasi dan kondisi fisik seperti waktu inkubasi yang menjadi faktor penting untuk aktinomisetes

dapat memproduksi senyawa metabolitnya. Produksi senyawa bioaktif ini memerlukan kultivasi fermentasi yang cocok seperti pemanfaatan media yang spesifik. Fermentasi yang dapat dilakukan adalah *Solid State Fermentation* (SSF). SSF telah diterapkan untuk produksi metabolit sekunder, seperti antibiotik. Metode SSF ini memiliki teknologi yang sederhana dan tepat, karena sumber daya yang tersedia secara lokal seperti limbah cangkang udang (Setiawan *et al.*, 2022).

Dari penjelasan di atas, maka dilakukan proses produksi senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa bioaktif dengan menggunakan metode fermentasi SSF yang mengacu pada Setiawan *et al.*, (2021). Isolat aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* (19B19A1), yang digunakan diambil dari deposit Unit Pelaksana Analisis (UPA) Laboratorium Terpadu, Universitas Lampung. Tahap berikutnya, hasil fermentasi tersebut diekstraksi menggunakan EtOAc, kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kasar senyawa metabolit sekunder yang selanjutnya dilakukan pemurnian. Pemurnian menggunakan kolom kromatografi dan hasil senyawa murni dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) yang diamati di bawah sinar UV dan pereaksi spesifik seperti serium sulfat, dragendorff dan ninhidrin. Senyawa murni tersebut selanjutnya diuji bioaktivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* dengan metode *Microtiter assay 96 well plate* dan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Senyawa bioaktif yang didapatkan dianalisis lebih lanjut menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) untuk menentukan berat molekul dan pola fragmentasi senyawa yang diperoleh.

1.2 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Memperoleh senyawa oleh isolat metabolit sekunder yang dihasilkan oleh isolat aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* (19B19A1).

2. Mengevaluasi aktivitas senyawa metabolit *Streptomyces tritolerans* (19B19A1) sebagai agen antibakteri yang resisten yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Mengetahui karakteristik antibakteri isolat aktinomisetes 19B19A1 menggunakan LC-MS/MS.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi potensi senyawa metabolit dari isolat aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* (19B19A1) untuk studi lanjut sebagai senyawa bioaktif yang memiliki kemampuan antibakteri terhadap bakteri patogen.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Perairan Indonesia

Indonesia merupakan sebuah *archipelago* dengan jumlah pulau sebanyak 17.504 (FAO (2022)). Luas wilayah perairan Indonesia adalah 65% dari total luas wilayah Indonesia dengan garis pantai sepanjang 81.000 km (Gerungan, 2016). Tentunya dengan kondisi geografis tersebut memberikan kelimpahan potensi sumber daya perikanan bagi Indonesia. Berdasarkan data FAO tahun 2022, menjelaskan Indonesia memiliki wilayah yang berpotensi sebagai sumber daya perikanan yaitu sebesar 26.606.000 ha.



Gambar 1. Peta Kawasan Konservasi Perairan Indonesia.

Perairan laut Indonesia secara umum terbagi menjadi dua, yaitu perairan dangkal dan laut dalam. Di perairan dangkal hingga kedalaman 40 meter, terdapat salah satu ekosistem yang sangat penting bagi kehidupan laut, baik di wilayah dangkal maupun laut dalam. Ekosistem terumbu karang adalah salah satu ekosistem paling produktif di laut tropis. Luas terumbu karang di perairan Indonesia diperkirakan mencapai sekitar 85.707 km², yang menunjukkan kekayaan alam yang luar biasa.

2.2 Perairan Gorontalo

Perairan Teluk Tomini, yang terletak di kawasan Gorontalo pada garis khatulistiwa, mencakup tiga provinsi yaitu Sulawesi Utara, Gorontalo, dan Sulawesi Tengah. Teluk ini dikenal sebagai teluk terbesar kedua di Indonesia setelah Teluk Cenderawasih dan memiliki kedalaman lebih dari 200 meter. Dasar laut yang turun secara cepat memungkinkan adanya berbagai spesies laut seperti paus, lumba-lumba, dan invertebrata di dekat garis pantai. Keberadaan bentang laut yang turun tajam dekat daratan juga memberikan keuntungan tambahan dengan menyediakan habitat yang aman untuk spesies sesil, yang akan rentan terhadap gelombang di perairan dangkal, sehingga mereka dapat berkembang biak dengan baik di kedalaman tersebut (Madjowa *et al.*, 2020).



Gambar 2. Peta teluk Tomini, Gorontalo.

Teluk Tomini yang secara geografis terbentang dari 0°30' Lintang Utara hingga 1°30' Lintang Selatan dan 120° hingga 123°30' Bujur Timur merupakan bagian perairan laut Indonesia yang dilewati oleh garis khayal khatulistiwa. Hal ini menjadikan perairan teluk memiliki produktivitas perairan serta biodiversitas akuatik yang cukup tinggi baik di perairan darat (Kono *et al.*, 2021; Padja *et al.*, 2021).

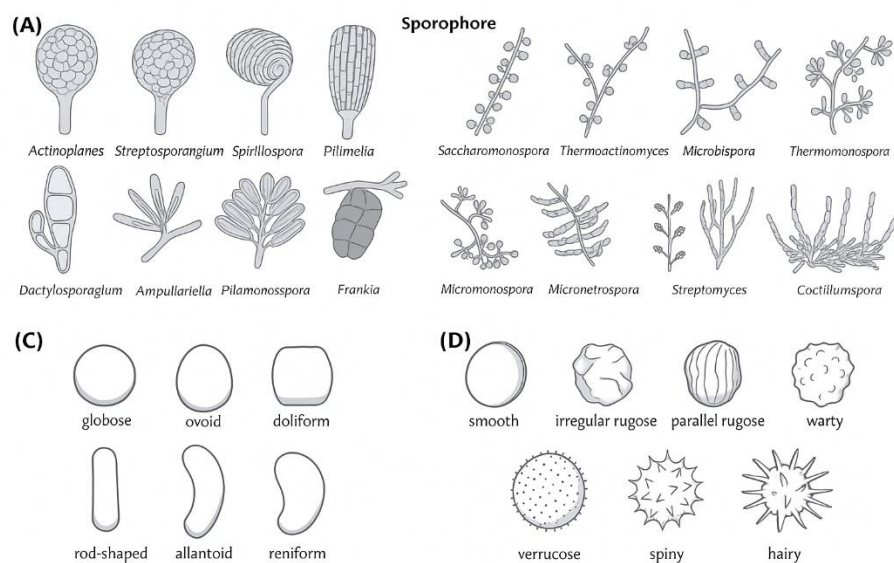
Teluk Tomini merupakan teluk terbesar di wilayah khatulistiwa dengan luas 59.500 km² atau sekitar ± 6 juta hektar. Teluk ini terletak di jantung segitiga karang dunia dan berbatasan dengan Laut Maluku di sebelah Timur dan Laut Sulawesi di sebelah Barat. Daerah ini berada di zona Wallacea, yang secara historis merupakan wilayah terpisah di Asia dan Benua Australia. Administratifnya, Teluk Tomini meliputi tiga provinsi dan lima belas kabupaten/kota di Sulawesi (Madjowa *et al.*, 2020).

2.3 Aktinomisetes

Aktinomisetes merupakan mikroorganisme yang termasuk dalam ordo *Actinomycetales* dan *filum Actinobacteria*. Aktinomisetes merupakan salah satu kelompok taksonomi terbesar dalam domain bakteri. Mikroorganisme ini dapat beradaptasi dengan berbagai lingkungan, termasuk tanah, air (bahkan air asin), dan udara. Sebagian besar aktinomisetes lebih sering ditemukan di tanah yang bersifat alkali dan kaya akan bahan organik (De Simeis and Serra, 2021).

Aktinomisetes merupakan bakteri gram positif yang memiliki kadar G+C tinggi, dengan sel berbentuk filamen dan koloninya berwarna putih serta teksturnya menyerupai tepung. Bakteri ini menunjukkan variasi morfologi yang mencolok dibandingkan dengan bakteri gram positif lainnya, meskipun memiliki struktur prokariotik yang jelas dan berbeda dari jamur. Perbedaan morfologi pada aktinomisetes mencakup keberadaan atau ketiadaan miselium udara atau substrat, warna miselium, bentuk dan ornamen spora, serta kemampuan menghasilkan pigmen melanoid.

Berdasarkan perbedaan dalam morfologi dan fungsinya, miselium dapat dikategorikan menjadi miselium substrat dan miselium udara. Beberapa aktinomisetes mampu membentuk struktur yang kompleks, seperti spora, rantai spora, sporangia, dan sporangiospora. Karakteristik morfologi yang penting untuk mengklasifikasikan aktinomisetes meliputi cara pertumbuhannya dan pola penyebaran miselium pada substrat, posisi spora, jumlah spora, struktur permukaan spora, bentuk sporangia, serta keberadaan atau ketiadaan flagela pada sporangiospora (Ali *et al.*, 2022).



Gambar 3. Bentuk Rantai Spora dan Spora Aktinomisetes (Li *et al.*, 2016).

Koloni aktinomisetes terdiri dari dua tipe miselia yang berbeda, yaitu miselium substrat (vegetatif) dan miselium udara (aerial miselium). Kedua jenis miselium ini memiliki fungsi yang berbeda. Miselium substrat berperan dalam mengambil zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan. Miselium substrat dapat menembus hingga ke dalam substrat atau tumbuh di permukaan, sedangkan miselium udara tumbuh ke atas. Miselium udara menutupi permukaan koloni sehingga koloni terlihat berbulu dan bertepung. Miselium udara berfungsi sebagai organ reproduksi; saat nutrisi lingkungan berkurang, miselium udara berkembang menjadi rantai spora yang merupakan fase dewasa dalam siklus hidupnya. Spora akan berkecambah dan tumbuh menjadi miselium baru (Budi *et al.*, 2022).

Fragmentasi miselium adalah bentuk khusus dari reproduksi vegetatif yang menghasilkan spora atau konidia. Proses fragmentasi dan segmentasi atau pembentukan konidia memainkan peran penting dalam sporulasi aktinobakteri. Klasifikasi aktinobakteri sangat bergantung pada perbedaan morfologi dan fungsinya. Ciri morfologi sangat penting untuk pengelompokan aktinobakteri. Berbagai faktor seperti pertumbuhan miselium substrat, posisi dan jumlah spora, struktur permukaan spora, bentuk sporangia atau konidia, serta apakah sporangiospora memiliki flagela atau tidak, menentukan klasifikasinya. Penampilan morfologi aktinobakteri umumnya kokoh, keras, dan seringkali kasar dengan permukaan yang kering pada media kultur, serta sering kali ditutupi oleh miselium dan spora yang berada di udara (Hazarika *and* Thakur, 2020).

2.4 Aktinomisetes Biota Laut

Aktinomisetes laut merupakan sumber senyawa metabolit sekunder baru yang menunjukkan berbagai kemampuan biologis seperti sebagai antibakteri, antijamur, antikanker, insektisida dan enzim. Senyawa bioaktif dari aktinomisetes laut memiliki struktur kimia beragam yang dapat digunakan untuk sintesis obat baru sebagai upaya melawan resistensi bakteri patogen. Senyawa bioaktif aktinomisetes yang diisolasi dari sampel laut memiliki kemampuan dalam melawan mikroba patogen seperti bakteri gram positif, bakteri gram negatif dan fungi patogen (Sarkar *and* Suthindhiran, 2022). Aktinomisetes yang bertempat tinggal di lingkungan laut, khususnya yang berasal dari organisme laut, menyajikan beragam senyawa bioaktif yang dipicu oleh interaksi ekologis inangnya. Beberapa sumber laut tersebut meliputi spons, sedimen laut, kepiting, ascidian, substrat laut, teripang, karang, ikan, dan alga yang memiliki hubungan simbiosis dengan aktinomisetes (Siro *et al.*, 2022).

Aktinomisetes laut yang berpotensi menghasilkan senyawa metabolit sekunder sebagai antimikroba yang berhasil diidentifikasi dari berbagai kawasan Indonesia didominasi oleh strain *Streptomyces*. Sejumlah 71 isolat yang diperoleh dari sampel sedimen dari beberapa pantai Indonesia teridentifikasi sebagai 57 spesies

Streptomyces yang berbeda. Lima puluh di antaranya menunjukkan aktivitas antimikroba (Pasmawati, 2025).

2.5 Aktinomisetes Sebagai Penghasil Senyawa Antimikroba

Actinomycetes mempunyai aktivitas untuk menghasilkan senyawa-senyawa yang berguna. Kelompok bakteri gram-positif penghasil senyawa aktif terbanyak dibandingkan dengan bakteri ataupun cendawan adalah *actinomycetes*. Senyawa aktif yang dihasilkan seperti antimikroba, antikanker, antivirus, maupun antikolesterol. Manfaat dari *actinomycetes* yakni dapat menghasilkan jenis senyawa farmakologis seperti antioksidan, antitumor serta antibakteri. Beberapa antibiotik penting yang dihasilkan oleh aktinomisetes antara lain *streptomycin*, *tetracycline*, dan *erythromycin*. Kemampuan mereka untuk memproduksi senyawa antimikroba disebabkan oleh beragam jalur biosintetik yang dimiliki, yang memungkinkan mereka menghasilkan metabolit sekunder dengan struktur kimia yang kompleks dan efektif melawan berbagai patogen. Aktinomisetes memainkan peran penting dalam bidang medis dan bioteknologi karena senyawa antimikrobanya dapat digunakan untuk mengobati berbagai infeksi bakteri yang kebal terhadap antibiotik konvensional. *Actinomycetes* dianggap sebagai sumber potensial untuk produksi antibiotik, metabolit sekunder dan senyawa bioaktif (Hashary and Rufaidah, 2021).

Actinomycetes yang diisolasi dari perairan laut diketahui mampu menghasilkan metabolit sekunder baru. Pada beberapa penelitian yang dilakukan menunjukkan aktivitas biologis termasuk antibakteri, antifungi, antikanker, insektisida dan enzim inhibitor. Senyawa bioaktif yang dihasilkan oleh *actinomycetes* laut mempunyai struktur kimia yang berbeda. Hal ini memungkinkan dihasilkannya senyawa yang mampu menjadi dasar sintesis obat baru bagi patogen yang bersifat resisten terhadap antibiotik. Zat antimikroba yang diperoleh dari mikroorganisme lebih menguntungkan daripada zat antimikroba yang diperoleh dari tanaman. Senyawa metabolit sekunder yang bersifat antimikroba yang dihasilkan oleh mikroorganisme seperti cendawan dan bakteri lebih digunakan beberapa dekade

terakhir. Bakteri menghasilkan metabolit sekunder yang luas dan sekitar dua pertiga antibiotik yang digunakan saat ini berasal dari bakteri. Dari kelompok *actinomycetes* sendiri telah berhasil diisolasi sekitar 70% antibiotik dan sebagian besar berasal dari *strain Streptomyces* (Alhidayatullah dkk., 2022).

2.6 *Streptomyces* sp.

Streptomyces merupakan produk alami yang berasal dari mikroorganisme berfungsi sebagai sumber penting obat-obatan dan agen terapeutik yang berharga. *Streptomyces* adalah genus bakteri yang paling umum di lingkungan dengan kemampuan yang sangat baik untuk menghasilkan berbagai produk alami yang berharga dengan aktivitas biologis yang signifikan dalam bidang kedokteran, lingkungan, industri makanan, dan sektor agronomi. Genus *Streptomyces* mencakup bakteri pembentuk spora, berfilamen, dan Gram positif dalam filum *Actinobacteria* yang hidup di berbagai lingkungan, seperti lingkungan ekstrem dan habitat yang belum dieksplorasi, seperti wilayah darat dan laut (Khadayat *et al.*, 2020). *Streptomyces* memiliki G + C % yang sangat tinggi (>70%) yang dianggap sebagai fitur khusus di antara bakteri. Bakteri ini dikenal dengan bau khas tanah yang dihasilkan oleh senyawa volatil geosmin. *Streptomyces* memiliki beberapa gugus gen biosintetik (BGC) pada setiap genom, yang merupakan sumber berbagai senyawa bioaktif dengan penggunaan medis atau pertanian. *Streptomyces* menghasilkan sekitar 100.000 senyawa antibiotik, yang mencakup 70–80% dari semua produk bioaktif alami (Nicault *et al.*, 2021).

Antibiotik merupakan produk *Streptomyces* yang paling berharga. Aktinomisetes menghasilkan dua pertiga dari semua antibiotik mikroba, dengan sekitar 80% berasal dari genus *Streptomyces*. *Streptomyces* yang diisolasi dari lingkungan ekstrem juga memiliki kemampuan untuk menghasilkan beberapa produk antibakteri, termasuk alkaloid, angucyclines, makrolida, dan peptida (Sivalingam *et al.*, 2019). *Streptomyces* yang berasal dari laut dianggap sebagai penghasil terbesar dari berbagai macam produk alami dan antibiotik. *Streptomyces* laut

ditemukan dalam berbagai akuakultur, seperti rumput laut, moluska, ikan, spons, bakau, air laut, dan sedimen.

2.7 Kulit Udang

Kulit udang merupakan salah satu sumber bahan baku yang melimpah di alam dan dapat dimanfaatkan secara optimal karena seringkali dianggap sebagai limbah dalam industri pengolahan makanan laut. Bagian tubuh udang yang tidak dapat dimakan, seperti kepala, kulit, dan ekor, menyumbang sekitar 46% dari keseluruhan tubuh udang, sehingga jumlah limbah yang dihasilkan cukup besar. Limbah ini kaya akan senyawa bernilai, termasuk kitin, protein, dan mineral, yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri. Salah satu komponen utama kulit udang adalah kitin, biopolimer alami kedua yang paling melimpah di bumi setelah selulosa. Kitin yang terkandung dalam kulit udang berkisar antara 15-40%, sementara kandungan proteinnya mencapai 20-40%, dan mineralnya 30-60% (Bastiaens *et al.*, 2019). Kandungan ini menjadikan kulit udang sumber yang menjanjikan untuk dieksplorasi lebih lanjut, terutama dalam pengembangan produk turunan seperti kitosan, yang banyak digunakan dalam industri kesehatan, kosmetik, dan pengolahan air. Kitin pada kulit udang termasuk dalam jenis α -kitin, yang memiliki struktur kristal yang sangat kuat. Hal ini disebabkan oleh adanya dua jenis ikatan, yaitu ikatan intramolekul dan intermolekul, yang tersusun dalam pola antiparalel. Struktur ini memberikan α -kitin sifat yang lebih kaku, stabil, dan tidak mudah bereaksi dibandingkan dengan bentuk kitin lainnya, seperti β -kitin yang lebih lunak dan reaktif. Selain itu, α -kitin juga memiliki karakteristik tidak larut dalam air, yang membuatnya lebih tahan lama dan stabil di lingkungan alami (Bastiaens *et al.*, 2019).

Dalam dunia industri, kitin dari kulit udang banyak dimanfaatkan sebagai bahan dasar untuk menghasilkan kitosan, yang diperoleh melalui proses deasetilasi kitin. Kitosan ini memiliki sifat lebih larut dalam air dibandingkan kitin, sehingga dapat digunakan secara luas dalam berbagai aplikasi, termasuk sebagai bahan antibakteri, pengikat dalam industri farmasi, dan bahan dalam pengolahan air.

limbah. Kulit udang sebagai sumber kitin dan kitosan ini dapat berperan penting dalam mendukung praktik berkelanjutan di berbagai industri, sekaligus memberikan solusi dalam pengelolaan limbah industri perikanan (Bastiaens *et al.*, 2019). Melihat potensi besar dari pemanfaatan limbah kulit udang, penting untuk terus mengembangkan penelitian yang fokus pada pengolahan kitin menjadi senyawa yang lebih bernilai, serta mengeksplorasi manfaatnya dalam berbagai sektor industri. Penelitian mengenai fermentasi limbah udang oleh bakteri aktinomisetes, seperti *Streptomyces tritolerans*, membuka peluang baru dalam penemuan senyawa antimikroba, yang mampu melawan berbagai patogen resisten, termasuk *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. Inovasi ini tidak hanya membantu mengatasi masalah resistensi antibiotik, tetapi juga mendukung prinsip ekonomi sirkular dengan memanfaatkan limbah sebagai bahan baku yang berharga (Arancibia *et al.*, 2014).

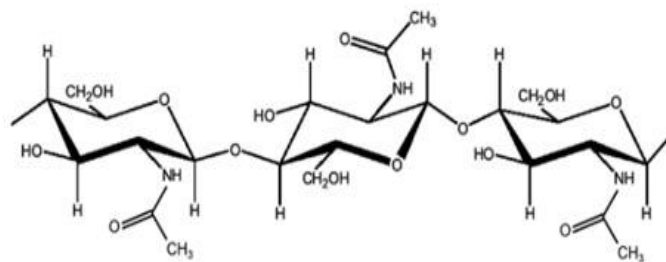
2.8 Kitin

Kitin adalah salah satu biopolimer terbanyak di alam selain selulosa yang merupakan polisakarida yang mengandung nitrogen dengan struktur kimia β -1,4-linked *N*-acetylglucosamine. Kitin ditemukan sebagai bahan penyusun cangkang atau rangka luar serangga dan krustasea, serta penyusun dinding sel fungi, diatom, bakteri dan alga (Bastiaens *et al.*, 2019). Karakter kitin yang kaku dan keras, serta keberadaannya sebagai bahan penyusun rangka luar atau dinding sel beberapa jenis makhluk hidup diduga terkait peran kitin sebagai templat untuk biomineralisasi kalsium dan silika, dimana fase kalsifikasi dan silifikasi berpusat pada area keberadaan kitin (Huang *et al.*, 2022).

Kitin di alam dapat ditemui pada alga, nematoda, kelompok arthropoda, *crustaceae*, *mollusca*, *protozoa*, dan *fungi*. Kitin adalah bahan struktural dalam endoskeleton artropoda (serangga, udang, kepiting) dan *cephalopoda* (sotong, cumi-cumi). Sumber kitin terbanyak diperoleh dari kelas *crustaceae* seperti udang, rajungan, dan kepiting. Sumber kitin terdapat pula pada bagian kulit ulat hongkong. Kandungan kitin dari beberapa spesies diantaranya pada kepiting

sebesar 60 %, udang 42-57 %, cumi-cumi 40%, dan kerang 14-35%, serta ulat hongkong sebesar 12,8%. Proporsi kitin tertinggi ditemukan pada krustasea hingga 30%, dan juga ditemukan di beberapa jamur dan alga. Kitin terletak di serat cangkang krustasea dan dicampur dengan garam mineral (kalsium karbonat), protein, pigmen, dan lipid (Mahatmanti dkk., 2022).

Kitin merupakan polisakarida yang terdiri dari rangkaian residu (1→4)-*linked-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranose*. Nama tersebut menunjukkan bahwa kitin disusun oleh rangkaian unit D-glukopiranos, yaitu enansiomer D-glukosa berbentuk cincin piranos (*pyranose*) dengan enam atom penyusun utama (satu atom oksigen dan lima atom karbon), yang pada atom karbon nomor dua atau C(2) terikat dengan grup asetamida (*acetamide*) menggantikan grup hidroksil (OH) pada glukosa secara umum. Unit-unit glukosamin tersebut terikat satu dengan yang lainnya di atom C(1) dan C(4) melalui ikatan β-glukosa, yaitu bentuk ikatan yang sama dengan unit glukosa penyusun selulosa. Grup asetamida (CH_3CONH_2) merupakan senyawa amida sederhana yang berasal dari asam asetat (CH_3COOH). Hal tersebut membuat struktur asetamida menyerupai asam asetat, namun gugus hidroksil (–OH) pada asam asetat tergantikan dengan gugus amina (–NH₂) di asetamida. Itu sebabnya unit glukosa penyusun kitin disebut juga N-asetilglukosamin (*N-acetyl-D-glucosamine*, GlcNAc) (Nainggolan, 2023).



Gambar 4. Struktur Kitin.

2.9 Enzim Kitinase

Kitinase (E.C 3.2.2.14) merupakan enzim glikosil hidrolase yang memiliki berat molekul sekitar 20 kDa dan ditemukan pada berbagai organisme, termasuk

bakteri, jamur, ragi, tanaman, aktinomisetes, serta arthropoda. Enzim ini mampu menguraikan kitin langsung menjadi *chitooligomer* dengan berat molekul rendah, yang bermanfaat dalam berbagai bidang seperti industri, pertanian, dan medis, termasuk sebagai elisitor dan memiliki aktivitas anti-tumor (Yuli *et al.*, 2004). *N-acetylglucosamine* (GlcNAc) telah mendapat perhatian khusus untuk pengobatan osteoarthritis. Selain itu, kitinase juga semakin diperhatikan karena perannya dalam pengendalian hayati fitopatogen jamur (Singh *et al.*, 2021).

Kitinase mengubah polimer kitin menjadi kitooligosakarida (COS), yang kemudian diubah menjadi unit N-asetil-D-glukosamin melalui aksi kitobiase. COS mempunyai beberapa aktivitas biologis yang penting, seperti antimikroba, antioksidan, antiinflamasi, penghambat enzim pengubah angiotensin I (ACE), imunostimulasi, antitumor, dan aktivitas hipokolesterolemia, serta kemampuan meningkatkan penyerapan zat besi dan kalsium. Limbah kulit udang dihasilkan dalam jumlah besar, valorisasi berkelanjutan sangat penting untuk mencegah pencemaran lingkungan. Enzim aktif kitin merupakan alat penting untuk pengelolaan limbah kitin, sekaligus menghasilkan produk bernilai tambah. Terlepas dari banyaknya aplikasi industri, kitinase, sebagai agen biokontrol, semakin populer di sektor pertanian, untuk meningkatkan produktivitas tanaman. Enzim kitinase merupakan alternatif yang aman dibandingkan pestisida beracun untuk melindungi tanaman, karena kemampuan uniknya dalam menghambat jamur dan serangga patogen tanpa mengganggu tanaman, vertebrata, dan komponen ekosistem lainnya (Poria *et al.*, 2021).

2.10 Senyawa Metabolit Sekunder Aktinomisetes Laut

Aktinomisetes merupakan bakteri Gram positif, berbentuk seperti filamen, membentuk spora dan dapat tumbuh pada suhu antara 25 – 30°C. Bakteri ini memiliki metabolit sekunder yang luas dan menghasilkan sekitar dua pertiga antibiotik yang digunakan pada pengobatan klinis saat ini. Sekitar 70% antibiotik yang sudah ditemukan sampai saat ini yang diisolasi dari aktinomisetes, dimana

sebagian besar berasal dari kelompok strain *Streptomyces* (Tsani *et al.*, 2021). Aktinomisetes mampu memproduksi metabolit sekunder seperti terpenoid, sterol, peptida, alkaloid, dan asam lemak. Metabolit sekunder aktinomisetes memiliki aktivitas berbeda-beda seperti antibakteri, antijamur, antikanker, atau antimalaria (Subramani *and* Sipkema, 2019).

Metabolit sekunder merupakan senyawa metabolit yang tidak esensial bagi pertumbuhan organisme dan ditemukan dalam bentuk yang unik atau berbeda beda antara spesies yang satu dan lainnya. Setiap organisme dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berbeda-beda, atau mungkin satu jenis senyawa metabolit sekunder hanya ditemukan pada satu spesies dalam suatu kingdom. Senyawa ini tidak selalu dihasilkan, tetapi hanya pada saat dibutuhkan saja atau pada fase-fase tertentu. Fungsi metabolit sekunder yaitu untuk mempertahankan diri dari kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, misalnya untuk mengatasi hama dan penyakit, menarik polinator, dan sebagai molekul sinyal. Singkatnya, metabolit sekunder digunakan organisme untuk berinteraksi dengan lingkungannya. Metabolit sekunder diproduksi oleh bakteri, *Actinomycetes*, jamur, tumbuhan, dan hewan (Srivastava *et al.*, 2021).

Alkaloid adalah senyawa kimia utama dalam metabolit sekunder aktinomisetes dan salah satu jenis senyawa yang paling banyak digunakan sebagai obat. Sebagian besar molekul yang mengandung nitrogen ini memiliki struktur cincin yang kompleks dengan aktivitas farmakologis yang menjanjikan (Liu *et al.*, 2024). Alkaloid memiliki struktur kimia yang sangat berbeda termasuk sistem cincin heterosiklik dan mencakup lebih dari 20.000 molekul yang berbeda dalam 17 organisme. Alkaloid dapat diklasifikasikan menurut zat awal dari jalur biosintesisnya, seperti asam amino yang menyediakan atom nitrogen dan bagian dari kerangkanya termasuk terpenoid dan purin. Dengan demikian, identifikasi zat awal yang mensintesis berbagai alkaloid adalah salah satu kunci terpenting untuk klasifikasi senyawa alkaloid alami. Struktur kimia alkaloid sangat beragam dan ekstraksi fitur senyawa kimia dari struktur molekul sangat penting untuk klasifikasi senyawa alkaloid. Struktur kimia alkaloid sangat bervariasi, dan dapat dibagi menjadi beberapa kelas berdasarkan strukturnya, seperti indoles, kuinolin,

isokuinolin, pirolidin, piridin, pirolizidin, tropan, serta terpenoid dan steroid (Eguchi *et al.*, 2019).

2.11 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri berbentuk bulat (kokus) dan termasuk golongan bakteri gram positif. Bakteri ini tersebar luas di alam, dan beberapa di antaranya hidup sebagai flora normal pada manusia, terutama di area ketiak, daerah inguinal, perineum, serta bagian depan lubang hidung. Sekitar 25-30% populasi manusia membawa *Staphylococcus aureus* di dalam rongga hidung dan kulitnya (Soedarto, 2015). Menurut Tortora (2004) *Staphylococcus aureus* diklasifikasikan sebagai berikut:

Domain : *Bacteria*
Kingdom : *Eubacteria*
Phylum : *Firmicutes*
Class : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Family : *Staphylococcaceae*
Genus : *Staphylococcus*
Species : *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki bentuk bulat (kokus) dengan diameter sekitar 1 µm dan bersifat Gram positif saat diwarnai. Ketika diamati di bawah mikroskop, bakteri ini tampak berkelompok seperti anggur. Bakteri *S. aureus* yang bersifat patogen menunjukkan sifat invasif, menyebabkan hemolisis, membentuk koagulase, serta mampu memfermentasi manitol. *Staphylococcus aureus* tidak bergerak (nonmotil), tidak membentuk spora, bersifat katalase positif, dan menghasilkan metabolit yang terbagi menjadi tiga jenis, yaitu metabolit non-toksin, eksotoksin, dan enterotoksin (Soedarto, 2015).

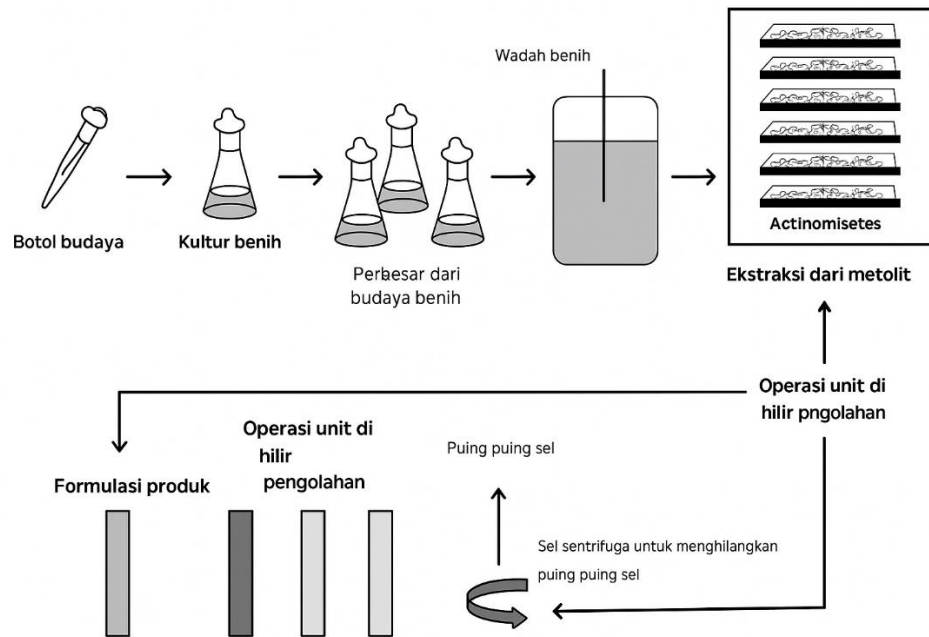
2.12 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram negatif aerob obligat, berkapsul, mempunyai flagella polar sehingga bakteri ini bersifat motil, berukuran sekitar 0,5-1,0 um. *Pseudomonas* secara umum tidak memiliki enzim hidrolitik yang penting dalam mendegradasi polimer menjadi monomer namun bakteri ini memiliki *system inducible* operon yang mampu menghasilkan enzim tertentu dalam proses metabolisme sumber karbon yang tidak biasa digunakan oleh karena itu bakteri ini memiliki peran penting dalam proses biodegradasi (Anggraeni and Triajie, 2021).

Pseudomonas aeruginosa adalah bakteri gram-negatif yang ada di mana-mana yang menyebabkan infeksi nosokomial, serta infeksi fatal pada individu dengan gangguan kekebalan tubuh, seperti pasien kanker, pasca operasi, luka bakar parah atau terinfeksi *human immunodeficiency virus* (HIV). Pada tahun 2017, *P.aeruginosa* diakui sebagai salah satu bakteri yang paling mengancam jiwa dan terdaftar sebagai patogen prioritas untuk Penelitian dan Pengembangan antibiotik baru oleh Organisasi Kesehatan Dunia. Agen antimikroba umum seperti antibiotik seringkali menunjukkan kemanjuran terbatas karena kemampuan beradaptasi dan resistensi antibiotik intrinsik yang tinggi dari *P. aeruginosa*, sehingga meningkatkan mortalitas (Thi *et al.*, 2020).

2.13 *Solid State Fermentation* (SSF)

Fermentasi fase padat (*Solid state Fermentation/SSF*) adalah metode tiga fase yang melibatkan kombinasi fase padat, cair, dan gas untuk mengubah substrat awal, di mana mikroorganisme tumbuh pada substrat tersebut dengan fase gas yang terus berlangsung. SSF menyediakan kondisi yang sangat mirip dengan lingkungan alami mikroorganisme, terutama yang biasanya hidup pada bahan padat seperti permukaan tumbuhan, batu, tanah, serta material organik yang membusuk seperti daun, kulit kayu, dan kayu (Yafetto, 2022).



Gambar 5. Skema langkah-langkah proses SSF.

Solid State Fermentation (SSF) digambarkan sebagai sistem di mana mikroorganisme tumbuh pada media padat dengan kelembapan rendah dan telah diakui sebagai metode yang memiliki potensi besar dalam bidang bioteknologi (Manan and Webb, 2017). SSF dianggap sebagai teknik alternatif yang lebih ekonomis karena biaya pengolahannya yang lebih rendah, penggunaan bahan kimia yang lebih hemat, pengurangan konsumsi air dan energi, serta pemanfaatan limbah agroindustri sebagai media utama yang dapat menurunkan biaya produksi enzim, terutama untuk produksi dalam skala besar (Sedijani *et al.*, 2023).

Penelitian telah mengidentifikasi pengaruh lingkungan spesifik SSF mempunyai dampak besar pada produksi metabolit sekunder. Metabolit sekunder merupakan senyawa dengan struktur kimia bervariasi dan diproduksi oleh mikroorganisme setelah fase pertumbuhannya dengan cepat. *Solid State Fermentation* adalah metode yang efisien, murah, dan konversi sampah organik menjadi produk turunannya yang ramah lingkungan. Memanfaatkan aktinomisetes laut sebagai pengurai limbah cangkang udang memiliki kemampuan untuk mengkonversi ke produk oligomer masih sangat terbatas. Aktinomisetes telah diketahui dapat

mengurai bahan organik karena menghasilkan berbagai enzim, salah satunya adalah kitinase, yang sangat bagus untuk memecah biopolimer menjadi bentuk yang sederhana (Setiawan *et al.*, 2022).

2.14 Kromatografi

Kromatografi adalah sebuah metode analitik yang digunakan untuk pemurnian dan pemisahan zat-zat organik dan anorganik. Kromatografi sangat berguna untuk pemisahan campuran yang kompleks, isolasi zat yang tidak stabil, dan pemisahan senyawa-senyawa yang memiliki hubungan dekat (isomer, homolog, dan lain-lain) (Hesse, 1957). Kromatografi adalah metode pemisahan campuran yang bergantung pada perbedaan distribusi komponen-komponen antara fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak bisa berupa gas atau cairan, sementara fasa diam dapat berupa cairan atau padatan. Teknik ini memungkinkan pemisahan campuran senyawa menjadi komponen-komponen spesifik, sehingga identifikasi dapat dilakukan berdasarkan komponen individu tersebut. Kromatografi fase terbalik menggunakan fasa diam nonpolar dan dielusi dengan pelarut polar, sehingga senyawa dengan polaritas tinggi akan terdeteksi lebih awal (Talamona, 2005). Dalam penelitian ini, teknik kromatografi yang digunakan adalah kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi kolom (KK).

2.13.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (*Thin-layer chromatography*/TLC) merupakan teknik kromatografi yang berguna untuk memisahkan senyawa organik. Karena kesederhanaan dan kecepatannya, sering digunakan untuk memantau kemajuan reaksi organik dan untuk memeriksa kemurnian produk. Teknik pemisahan dengan KLT memiliki banyak kelebihan, karena kromatografi lapis tipis merupakan teknik yang serbaguna, yang dapat diaplikasikan untuk hampir semua senyawa. Pemisahan dapat dicapai dengan biaya tidak terlalu mahal, yang dihasilkan dari adsorben yang baik dan pelarut yang murni. Pemisahan dapat

dicapai dalam waktu yang singkat, sehingga memungkinkan KLT merupakan suatu teknik dengan jaminan keberhasilan, di dalam pemisahan campuran yang tidak diketahui. Sedangkan beberapa kerugian dari KLT diantaranya yaitu kromatografi ini bisa menjadi pekerjaan yang kurang bersih, khususnya bila plat disiapkan sendiri. Para peneliti disarankan untuk menggunakan plat yang siap pakai. KLT dapat dibuat sebagai kromatografi kuantitatif, dengan memodifikasi peralatan kromatografi. Ini memerlukan biaya yang tidak sedikit. Lebih baik untuk menggunakan analisa semi kuantitatif (Rosamah, 2019).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan metode yang efektif untuk memisahkan dan menganalisis senyawa kimia, baik secara kualitatif maupun kuantitatif (Lillsunde *and* Korte, 2021). Metode ini dapat digunakan untuk menguji berbagai jenis senyawa, termasuk senyawa tunggal dan campuran, yang berasal dari berbagai sumber seperti produk manufaktur, hasil sintesis, isolasi dari hewan percobaan, tanaman, dan mikroorganisme. Metode KLT telah mengalami perkembangan dan metode ini tetap menjadi pilihan yang banyak digunakan karena kemudahan penggunaan, biaya yang terjangkau, dan selektivitasnya.

Kemajuan teknologi menjadikan berbagai aspek dalam metode KLT telah mengalami otomatisasi, termasuk pembuatan lapisan tipis, pemilihan fase diam, penotolan sampel, dan deteksi bercak (Salamah dan Guntarti, 2023). Kristanti *et al* (2008) menyatakan bahwa kromatografi lapis tipis (KLT) sering digunakan karena proses analisisnya yang cepat dan sederhana. Teknik ini dipakai untuk mengamati pola pemisahan senyawa dengan fase gerak yang merupakan kombinasi dua pelarut (eluen). Prinsip dasar KLT adalah adsorpsi dan partisi, di mana adsorpsi merupakan penyerapan pada permukaan, sedangkan partisi menggambarkan pemisahan suatu zat dalam larutan ke dalam pelarut yang digunakan. Kecepatan pergerakan senyawa-senyawa pada lempeng tergantung pada berbagai faktor.

KLT memiliki peran penting dalam pemisahan berbagai metabolit sekunder seperti polifenol, alkaloid, saponin, flavonoid, flavanon, asam amino, amina aromatik, asam, alkohol, glikol, amida, protein, peptida, antibiotik, porfirin, asam empedu, pestisida, dan vitamin. Dalam proses pemisahan senyawa metabolit

sekunder, diperlukan fasa diam seperti silika gel atau C18, yang juga memerlukan penggunaan pelarut dengan sifat yang berbeda. Penggunaan pelarut nonpolar seperti n-heksana umumnya digunakan saat menganalisis menggunakan SiO₂, sementara pelarut polar seperti MeOH dan H₂O digunakan bersamaan dengan pelat C18 (Setiawan *et al.*, 2022).

Hasil yang diperoleh kemudian diamati dengan cara menghitung rasio antara jarak pergerakan komponen yang terpisah dengan jarak pergerakan pelarut, yang dikenal sebagai faktor retardasi (Rf). Senyawa yang telah dipisahkan dapat diidentifikasi dengan menghitung nilai Rf, yaitu:

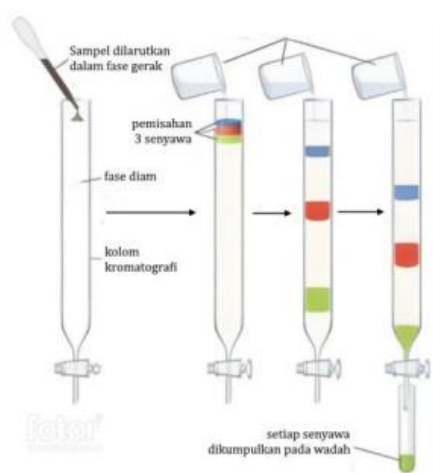
$$R_f = \frac{\text{Jarak Perjalanan Suatu Senyawa}}{\text{Jarak Perjalanan Suatu Fasa Gerak}} \quad (1)$$

Nilai Rf dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti sistem pelarut, adsorben (ukuran partikel, kandungan air, ketebalan), jumlah sampel yang dioleskan pada lempeng, dan suhu. Kromatografi lapis tipis (KLT) memiliki beberapa keunggulan, diantaranya waktu analisis yang singkat (sekitar 2–5 menit) dan penggunaan sampel yang sangat sedikit (2–20 µg).

2.13.2 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom merupakan teknik pemisahan dan pemurnian yang sederhana dan paling populer. Baik sampel padat maupun cair dapat dipisahkan dan dimurnikan dengan kromatografi kolom. Kromatografi kolom terdiri dari fase padat stasioner yang menyerap dan memisahkan senyawa yang melewatinya dengan bantuan fase gerak cair. Berdasarkan sifat kimianya, senyawa diserap dan elusi didasarkan pada penyerapan diferensial suatu zat oleh adsorben. Berbagai fase stasioner, seperti silika, alumina, kalsium fosfat, kalsium karbonat, pati, dan magnesita, dan berbagai komposisi pelarut berdasarkan sifat senyawa yang akan dipisahkan dan diisolasi, digunakan dalam kromatografi kolom. Dalam kromatografi kolom, gelas silinder Tabung, yang disumbat di bagian bawah dengan sepotong wol kaca atau cakram berpori, diisi dengan bubuk (adsorben) dan

pelarut yang sesuai. Sampel yang akan dipisahkan dicampur dengan silika dan dimasukkan di bagian atas kolom dan dibiarkan bergerak bersama pelarut. Dengan perbedaan polaritas, senyawa diserap di daerah yang berbeda dan didesorpsi dengan polaritas pelarut yang sesuai. Senyawa dengan kemampuan adsorpsi yang lebih tinggi akan diserap di bagian atas dan senyawa dengan kemampuan adsorpsi yang lebih rendah akan berada di bagian bawah. Dengan menambahkan pelarut di bagian atas, senyawa akan didesorpsi dan melewati kolom dan proses ini disebut elusi (Srivastava *et al.*, 2021).



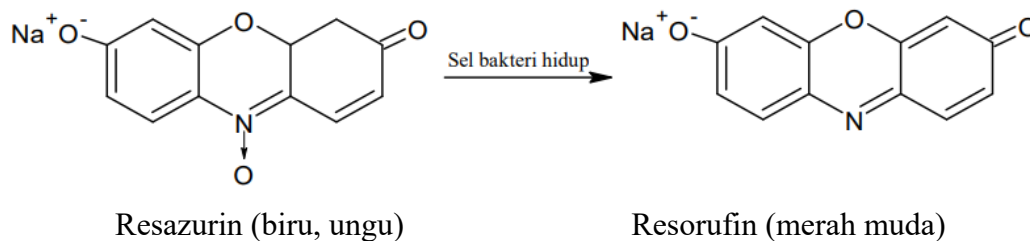
Gambar 6. Pemisahan sampel dengan kromatografi kolom (Salamah dan Guntarti, 2023).

Kromatografi kolom memiliki prinsip dasar yang serupa dengan kromatografi planar, dengan perbedaan utama pada bentuk wadah fase diamnya yang berbentuk silinder. Kolom ini umumnya memiliki diameter antara 1 hingga 2 cm, dengan panjang yang bervariasi. Ketika kita mempelajari karakteristik kimia-fisika suatu senyawa, terutama terkait kelarutannya dalam air dan pelarut organik, kita dapat mengamati perbedaan tingkat kelarutan. Ilustrasi yang baik untuk fenomena ini dapat dilihat pada Gambar 6, di mana sebuah corong pisah menunjukkan pemisahan dua fase: air di bagian atas dan kloroform di bagian bawah (Salamah dan Guntarti, 2023).

2.15 Aktivitas Antibakteri

Antibakteri merupakan senyawa yang dapat mengganggu pertumbuhan bakteri atau bahkan membunuh bakteri dengan cara mengganggu metabolismenya. Senyawa ini memiliki sifat toksik selektif, artinya senyawa tersebut dapat secara spesifik menargetkan dan membunuh bakteri penyebab penyakit tanpa menjadi racun bagi inangnya. Mekanisme kerja dari senyawa antibakteri antara lain merusak dinding sel bakteri, menghambat kerja enzim, dan menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Hood, 2020). Skrining aktivitas antibakteri dilakukan untuk mengetahui potensi atau kemampuan dari suatu senyawa dalam memberikan pengaruh untuk menghambat atau membunuh pertumbuhan suatu bakteri. Salah satu metode yang dapat dilakukan untuk menguji aktivitas antibakteri suatu senyawa adalah dengan metode pengenceran mikro (*microdilution method*) yang telah terstandarisasi oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI).

Metode kuantitatif yang dikenal sebagai metode pengenceran mikro (*microdilution method*) digunakan untuk menentukan nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) yang merupakan indikator penting untuk mengetahui potensi suatu senyawa sebagai agen antimikroba. MIC ditentukan dalam konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$) di mana pertumbuhan bakteri dicegah di bawah kondisi pertumbuhan yang ditentukan. Metode mikrodilusi memiliki banyak keunggulan dibandingkan metode lain, termasuk tingkat akurasi yang tinggi, kemudahan penggunaan, cepat, dan hasil visualisasi yang lebih baik. Penggunaan reagen resazurin untuk mengetahui titik akhir pengujian. Resazurin akan direduksi oleh sel-sel bakteri, warnanya akan berubah menjadi merah muda. Perubahan warna resazurin dari ungu menjadi merah muda dicatat sebagai hasil negatif, sedangkan warna biru atau ungu menunjukkan penghambatan pertumbuhan bakteri dan dianggap sebagai hasil positif (Elshikh *et al.*, 2016). Sel bakteri aktif mereduksi resazurin non-fluoresen (biru) menjadi resorufin fluoresen (merah muda) Gambar 7.



Gambar 7. Reduksi resazurin menjadi resorufin (Elshikh *et al.*, 2016)

Resazurin (nama IUPAC: 7-hydroxy-10-oxidophenoxazin-10-ium-3-one) adalah pewarna fenoxazin-3-one dengan warna biru tua dalam larutan. Resazurin ini telah digunakan sebagai indikator kelangsungan hidup sel dan aktivitas metabolisme sejak akhir tahun 1920an. Prinsip dasar uji resazurin yang secara komersial dikenal sebagai uji Alamar Blue adalah reduksi resazurin berwarna biru menjadi resorufin berwarna merah muda secara ireversibel berdasarkan aktivitas metabolisme di dalam sel. Konversi bentuk teroksidasi menjadi bentuk tereduksi oleh aktivitas enzim mitokondria dan sitoplasma (enzim tipe reduktase atau diaphorase) (Varçin *et al.*, 2021).

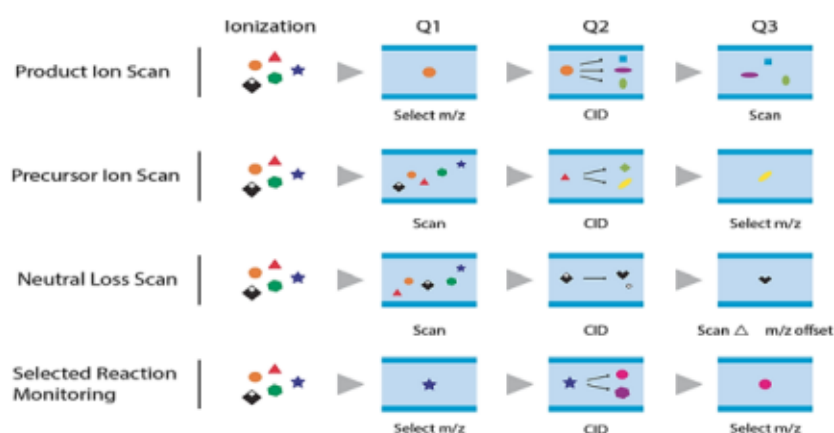
2.16 *Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry (LC MS/MS)*

Liquid Chromatograph Mass Spectrometry (LC-MS) merupakan teknik kimia analisis yang menggabungkan kemampuan pemisahan fisik kromatografi cair dengan menggunakan detektor spektrometer massa. Beberapa kelebihan yang dimiliki oleh LC-MS yaitu instrumen ini memiliki spesifitas yang tinggi, penggunaan yang luas dengan sistem yang praktis, fleksibilitas dan kaya akan informasi. Data yang didapatkan dari instrumen ini berupa kromatogram alur tinggi (*peak*) dengan bobot molekul dari senyawa yang terdapat dalam sampel yang diuji sehingga bisa kita ketahui jumlah senyawa yang dikandung pada setiap bahan uji (Nurwanti dkk., 2023).

Mass Spectrometry (MS) dapat digunakan secara selektif untuk mendeteksi analit serta menentukan berat molekulnya. *Mass Spectrometry* berfungsi sebagai

perangkat ion optik yang memisahkan ion berdasarkan rasio massa terhadap muatannya (m/z) dengan memanfaatkan gaya listrik dan magnet. Molekul gas akan terionisasi menjadi ion molekul, dan beberapa ion akan mengalami fragmentasi. Ion dengan nilai m/z yang berbeda akan melewati penganalisis massa dan mencapai detektor. Ion yang mengenai detektor akan diubah menjadi sinyal listrik, yang kemudian dikonversi menjadi sinyal digital di dalam komputer (Pramod *et al.*, 2020).

Kelebihan dari LC-MS/MS adalah selektivitas analitisnya yang tinggi. Untuk menangani kompleksitas matriks, analisis kuantitatif dimulai dengan pengenceran atau pemurnian bahan. Material tersebut kemudian dimasukkan ke dalam alat kromatografi cair. Eluen dari kromatografi cair yang mengandung analit dimasukkan ke dalam sumber spektrometer massa, di mana ion fase gas dihasilkan. Penganalisis massa pertama menyaring ion yang masuk, hanya memungkinkan ion prekursor untuk masuk ke sel tabrakan. Di dalam sel tabrakan, ion prekursor dibagi menjadi ion produk, yang diperiksa pada langkah akhir spektrometer massa tandem. Data spektrum massa mewakili pembangkitan ion, dan dengan memfokuskan pada pasangan ion prekursor/produk tertentu, analisis kuantitatif dapat dilakukan melalui pemantauan reaksi selektif (Thomas *et al.*, 2022).



Gambar 8. Prinsip LC-MS/MS (Pramod *et al.*, 2020).

Pemindaian ion produk (*Product ion scan*) melibatkan penyesuaian Q1 untuk mengirim prekursor yang telah ditentukan sebelumnya (m/z) ke sel tumbukan, dan

Q3 dipindai pada rentang massa untuk mengidentifikasi fragmen yang dihasilkan dalam kondisi eksperimental. Sementara itu, Pemindaian ion prekursor (*Precursor ion scan*) melibatkan pergeseran pada rentang massa di kuadropol pertama (Q1) untuk menentukan prekursor ion produk tertentu dengan nilai m/z yang kemudian diamati di kuadropol terakhir (Q3). Kehilangan netral (*Neutral loss*) juga diamati dengan pemindaian Q1 dan Q3 untuk mengidentifikasi semua prekursor yang menghasilkan produk dengan menghilangkan spesies netral (tidak bermuatan) yang sama dari semua prekursor. Rentang pemindaian Q3 disesuaikan dengan nilai NL. Dalam pemantauan reaksi terpilih (*Selected reaction monitoring*), Q1 dan Q3 digunakan untuk memantau nilai m/z spesifik dari ion prekursor dan produk. Mode ini lebih disukai untuk kuantifikasi gabungan karena keunggulan dalam spesifisitas dan sensitivitas (Pramod *et al.*, 2020)

III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Oktober 2024 sampai April 2025 di Unit Pelaksana Analisis (UPA) Laboratorium Terpadu, Universitas Lampung. Analisis *Liquid Chromatograph Mass Spectrometry/ Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) dilakukan, di Badan Reserse Kriminal POLRI, Pusat Laboratorium Forensik, Bogor.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *autoclave* Tomy SX-700, *Liquid Chromatography Mass Spectrometer/ Mass Spectrometry* (LC-MS/MS) ACQUITY UPLC® H-Class System (Waters, Beverly, MA, USA), neraca analitik Wigen Houser, *rotary evaporator* Buchii/R210, *laminar air flow* ESCO/AVC4A1, *incubator* Memmert-Germany/INC-02, mikroskop cahaya Axio Zeiss A1, lemari asam, seperangkat alat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan plat kaca aluminium *silica gel* DC kielsel 60_{F254}, lampu UV Kohler/SN402006, kolom kaca, *Liquid Chromatography Mass Spectrometer/ Mass Spectrometry*, alat-alat gelas diantaranya (gelas kimia, pipet tetes, Erlenmeyer, tabung reaksi, gelas ukur, cawan petri, botol *vial*, pipa kapiler, corong kaca, kaca preparat), batang pengaduk, mikropipet 100 µL, mikropipet 1000 µL, mikrotip, *microplate* 96-well IWAKI, pinset, gunting, kertas saring, aluminium foil, tisu, *cutter*, *loop*

ose, *drying oven* Jisico, bunsen *hot plate*, spatula logam, karet gelang, plastik *wrap*, dan spidol.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini meliputi limbah kulit udang, koloid kitin, akuades, *artificial sea water* (ASW) (NaCl 234,7 g, MgCl₂·6 H₂O 106,4 g, Na₂SO₄ 39,2 g, CaCl₂ 11,0 g, NaHCO₃ 1,92 g, KCl 6,64 g, KBr 0,96 g, H₃BO₃ 0,26 g, SrCl₂ 0,24 g, NaF 0,03 g, dan H₂O 10,0 L), agar, spirtus, alkohol 70%, HCl pekat, methanol (MeOH), etil asetat (EtOAc), *n*-heksana, methanol (MeOH) 12,5%, silika, *ciprofloxacin*, resazurin 0,02%, reagen visualisasi KLT meliputi serium sulfat (Ce(SO₄)₂) (10% Ce(IV) dan 15% H₂SO₄ dalam akuades), ninhidrin (2% ninhidrin dalam pelarut EtOH), dan dragendorff (stok 1 : Bismut nitrat 1,7 g dalam 80 mL air dan asam asetat glasial 20 mL; stok 2 : larutan KI (50% b/v, 100 mL) dengan asam asetat glasial), *Tryptic Soy Broth* (TSB), dan *Mueller Hilton Agar* (MHA).

3.3 Prosedur Penelitian

3.3.1 Pembuatan Media

Pada penelitian ini media yang digunakan antara lain untuk media tumbuh pada mikroorganisme yang akan dijadikan sampel dan bakteri patogen. Media yang dibuat untuk kultivasi (*scale up*) isolat aktinomisetes yaitu media koloid kitin agar, koloid kitin cair dan media kulit udang, sedangkan media untuk uji aktivitas antibakteri yaitu media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan *Tryptic Soy Broth* (TSB).

3.3.1.1 Media Koloid Kitin Agar

Media koloid kitin agar digunakan untuk meremajakan aktinomisetes mengacu pada (Setiawan *et al.*, 2022). Media dibuat dengan melarutkan 1 gram koloid kitin dan 2 gram agar dalam 100 mL air laut buatan dengan salinitas 30 ppt, setelah itu media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C.

3.3.1.2 Media Koloid Kitin Cair

Pembuatan media koloid kitin cair yang digunakan untuk kultivasi (*scale-up*) yang dilakukan berdasarkan pada metode yang digunakan oleh (Setiawan *et al.*, 2021). Media koloid kitin cair dibuat dengan melarutkan 1 gram kitin koloid dalam 100 mL air laut buatan dengan salinitas 30 ppt di dalam labu erlenmeyer 250 mL, setelah itu media disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C.

3.3.1.3 Media *Mueller Hinton Agar* (MHA)

Pembuatan media MHA dilakukan berdasarkan metode yang digunakan dalam penelitian (Mustarichie *et al.*, 2020) dengan sedikit modifikasi. Mula-mula 3% 25 Muller Hilton (MH) dilarutkan dalam 100 mL akuades pada 250 mL labu Erlenmeyer dan dihomogenkan untuk menghasilkan MHB. Pembuatan media MHA dilakukan dengan menambahkan 3% *nutrient agar* ke dalam filtrat (MHB) dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit sampai homogen. Filtrat disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang telah disterilisasi kemudian disimpan dalam oven pada suhu 60°C sebagai stok media MHA.

3.3.1.4 Media *Tryptic Soy Broth* (TSB)

Pembuatan media TSB dilakukan berdasarkan metode yang digunakan dalam penelitian Maryani dkk (2020). Media dibuat dengan melarutkan 0,75 gram *Tryptic Soy Broth* (TSB) dalam 25 mL akuades di dalam erlenmayer 50 mL, kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C. Media yang telah disterilisasi kemudian disimpan dalam oven pada suhu 60°C sebagai stok media TSB.

3.3.2 Biomaterial

Pada penelitian ini, isolat aktinomisetes 19B19A1 yang dipilih didapat dari *strain* deposit UPA Laboratorium Terpadu, Universitas Lampung yang sebelumnya telah diisolasi dari organisme laut yaitu *tunicate* yang berasal dari Teluk Tomini, Gorontalo, Indonesia (0°28'341.0"LU 123°05'10.0"BT). Bakteri patogen yang digunakan yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang digunakan pada penelitian ini untuk uji aktivitas antibakteri diperoleh dari Laboratorium Patologi Klinik, Rumah Sakit Abdul Moeloek, Bandar Lampung dan dipelihara pada media *Mueller Hinton Agar* (MHA).

3.3.2 Preparasi Media Tumbuh

3.2.2.1 Persiapan Kulit Udang

Biomaterial kulit udang diperoleh dari Pasar dari Gudang Lelang, Teluk Betung Selatan, Bandar Lampung. Biomaterial kulit udang dibersihkan dengan air dan dipisahkan secara manual dari dagingnya yang tersisa. Setelah dipisahkan, sampel limbah kulit udang yang terkumpul dibersihkan kembali dengan air untuk menghilangkan partikel pengotor lainnya yang masih menempel. Kemudian, sampel limbah kulit udang bersih dihancurkan menggunakan blender dengan ukuran kurang lebih 1 mm dan disimpan pada *frezeer*.

3.3.2.2 Pembuatan Koloid Kitin

Sebanyak 100 gram kulit udang didemineralisasi dengan HCl 1,5% (1:10 w/v) kemudian *distirer* selama 2 jam pada suhu 25° C. Selanjutnya disaring dengan *cheese cloth* dan residu dinetralisasi dengan akuades hingga pH 7, lalu dikeringkan dalam *oven* semalaman. Residu demineralisasi dideproteinasi dengan NaOH 10% kemudian *distirer* selama 2 jam pada suhu 90 °C. Selanjutnya residu disaring dan dinetralisasi hingga pH 7. Hasil deproteinasi dikeringkan di dalam *oven* dan ditimbang berat yang diperoleh (Nainggolan, 2023).

3.3.3 Peremajaan Aktinomisetes 19B19A1

Peremajaan isolat aktinomisetes 19B19A1 dilakukan pada media agar koloid kitin 1% mengacu pada (Laila *et al.*, 2023) dengan modifikasi. Isolat aktinomisetes 19B19A1 diremajakan pada media selektif koloid kitin 1% dengan komposisi (1% koloid kitin dan 2% agar yang dilarutkan dalam 100 mL air laut buatan) dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 120 °C dengan tekanan 1,2 atm selama 30 menit. Media koloid kitin dituang ke dalam cawan petri untuk mempersiapkan media *agar plate* koloid kitin 1%. Peremajaan aktinomisetes dilakukan dengan mengambil *strain* yang terdiri dari 1 koloni menggunakan ose kemudian dipindahkan pada media *agar plate* koloid kitin 1% lalu diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari.

3.3.4 Identifikasi Aktinomisetes

Pada prosedur ini, morfologi koloni aktinomisetes yang terisolasi diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan metode *coverslip* dengan kemiringan 45° yang ditempatkan pada permukaan agar yang mengandung koloid kitin 1% dan diinkubasi selama 3-4 hari yang mengacu pada (Sapkota *et al.*, 2020). Tahap selanjutnya setelah masa inkubasi, ornamen spora diidentifikasi menggunakan mikroskop Zeiss Axio Imager A1 dengan perbesaran 400x untuk mengidentifikasi miselium spora dan ornamen spora, mengacu pada metode yang dijelaskan oleh (Parte *et al.*, 2012). Identifikasi makroskopis aktinomisetes dilakukan dengan mengamati miselium substrat dan miselium aerial isolat.

3.3.5 Kultivasi (*Scale up*) dan Ekstraksi

Kultivasi aktinomisetes dilakukan secara *Solid State Fermentation* (SSF) mengacu pada (Setiawan *et al.*, 2021), kulit udang kering dihaluskan dengan blender dan digunakan sebagai substrat *Shrimp Shell Waste* (SSW) padat untuk SSF. Tahapan sebelum dilakukan kultivasi, mula-mula aktinomisetes diinokulasikan ke dalam

100 mL media yang mengandung koloid kitin 1% b/v dalam air laut buatan (ASW) pada labu Erlenmeyer 500 mL dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C dalam kondisi statis. Kultivasi skala besar (*scale up*) dilakukan untuk memperoleh ekstrak kasar aktinomisetes dengan aktivitas antibakteri yang cukup banyak sehingga dapat digunakan untuk analisis selanjutnya. Isolat unggul 19B19A1 yang aktif dikultivasi dalam Erlenmeyer 2000 mL sebanyak 10 Erlenmeyer dengan menggunakan media kulit udang steril dan diinkubasi selama 14 hari pada keadaan statis. Biomassa aktinomisetes dilakukan maserasi menggunakan pelarut etil asetat (EtOAc) dengan perbandingan 1:1 selama 24 jam, lalu filtrat disaring dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* (Setiawan *et al.*, 2022). Komponen dalam ekstrak dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Ekstrak kasar etil asetat ditotolkan pada plat KLT dan dielusi dengan n-heksan : etil asetat (1:1). Kromatogram yang diperoleh diidentifikasi menggunakan lampu UV untuk mengetahui adanya ikatan rangkap terkonjugasi dan diidentifikasi menggunakan pereaksi visualisasi $\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$, Dragendorff, dan ninhidrin.

3.3.6 Pemurnian Senyawa Bioaktif

Ekstrak yang berasal dari ekstrak kasar isolat 19B19A1 dimurnikan hingga mendapatkan senyawa bioaktif menggunakan metode kolom kromatografi. Proses pemurnian dilakukan dengan beberapa metode kromatografi, termasuk Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan pemurnian melalui kromatografi kolom terbuka. Pemurnian dengan kolom kromatografi ini menggunakan silika gel (SiO_2) sebagai fase diam yang dihidrasi menggunakan pelarut n-heksan dan dielusi dengan pelarut n-heksan : etil asetat (10:1), n-heksan : etil asetat (5:1), n-heksan : etil asetat (3:1), n-heksan : etil asetat (1:1), dan diakhiri dengan metanol 100%. Pada proses pemurnian kolom kromatografi disiapkan dalam kondisi kering, dan kapas diletakkan pada kolom tersebut. Kemudian pelarut n-heksana diteteskan dengan pipet tetes ke dalam kolom melalui dinding kolom untuk memadatkan kapas. Kapas bertindak sebagai penyaring.

Tahap selanjutnya, disiapkan fase diam berupa silika gel 60 yang telah ditambahkan pelarut organik. Silika gel 60 kemudian ditambahkan ke dalam kolom dan dipadatkan. Ketika ketinggian fase diam kolom telah stabil dan padat, ekstrak kasar dari isolat unggul yang dilarutkan dalam pelarut organik dialirkan melalui bagian atas kolom menggunakan pipet tetes. Eluen ditambahkan dengan perbandingan yang berbeda (v/v) untuk membentuk gradien. Setiap fraksi yang didapat ditampung ke dalam botol-botol *vial* (Supardan, 2022). Tahap selanjutnya dilakukan uji KLT, ekstrak diaplikasikan menggunakan pipa kapiler ke fase diam berupa pelat *silica gel* F254, dengan fase gerak campuran n-heksan dan etil asetat (EtOAc) dengan perbandingan (3:1) (Martosuyono *et al.*, 2014). Visualisasi pelat KLT dilakukan dengan menggunakan reagen spesifik ninhidrin, Dragendorff, dan serum (IV) sulfat. Masing-masing fraksi yang didapatkan selanjutnya diuji aktivitasnya sebagai antibakteri.

3.3.7 Skrining Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri diuji menggunakan bakteri patogen gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* sebagai bakteri gram positif menggunakan metode *broth microdilution* dalam *microplate* 96-well. Metode pengujian antibakteri mengacu pada (CLSI., 2020) dengan beberapa modifikasi. Tahapan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan dipersiapkan inokulum bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus* terlebih dahulu dengan cara, koloni *S. aureus* dan *P. aeruginosa* diambil dan dimasukkan dalam wadah pada media TSB sebanyak 5 mL, kemudian diencerkan hingga kekeruhan 0,5 McFarland ($1-5 \times 10^5$ CFU/mL). Pengujian dilakukan dalam 3 ulangan, masing-masing *well* diisi 100 μ L media TSB, 20 μ L inokulum bakteri, 100 μ L larutan *ciprofloxacin* 2 mg/mL sebagai kontrol positif, 100 μ L MeOH 12,5% sebagai kontrol negatif, dan 100 μ L ekstrak metanol 2 mg/mL dari sampel sebagai senyawa uji. Setelah itu, *plate* diinkubasi dan selama 18 jam pada suhu 37°C (Kowalska and Dudek, 2021). Setelah itu, ditambahkan 0.002% resazurin sebanyak 50 μ L pada masing-masing sumuran 96 *well plate* dan dilihat perubahan warna yang terjadi. Warna merah muda menandakan tidak adanya

hambatan, warna biru dan ungu menandakan adanya hambatan pertumbuhan bakteri patogen (Setiawan *et al.*, 2021).

3.3.8 Karakterisasi dengan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrophotometer* (LC-MS/MS)

Sampel dari fraksi aktif dari isolat 19B19A1 yang telah diuji aktivitasnya sebagai antibakteri kemudian diidentifikasi dan dikarakterisasi lebih lanjut dengan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrophotometer* (LC-MS/MS) untuk mengetahui berat molekul dan pola fragmentasi senyawa. Dalam karakterisasi menggunakan LC-MS/MS, ekstrak isolat aktinomisetes disuntikkan ke dalam kolom kromatografi. Fase gerak didorong ke kolom oleh pompa bertekanan tinggi dengan laju aliran yang dapat direproduksi. Elusi gradien umumnya digunakan saat komposisi fase gerak (persentase polar dengan non-polar) bervariasi selama proses, seperti waktu yang dibutuhkan untuk mengeluarkan analit yang diinginkan, membersihkan kolom, dan kemudian menyeimbangkan kembali kolom (Thomas *et al.*, 2022)

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan pembahasan penelitian, maka dapat disimpulkan:

1. Isolat aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* 19B19A1 dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder.
2. Senyawa metabolit sekunder yang berasal dari aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* 19B19A1 memiliki aktivitas yang efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*.
3. Fraksi aktif aktinomisetes *Streptomyces tritolerans* 19B19A1 yang dikarakterisasi menggunakan LCMS/MS menghasilkan senyawa Ansatrienin A dengan rumus molekul $C_{36}H_{48}N_2O_8$.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh ini, disarankan untuk dapat ditindaklanjuti pada penelitian selanjutnya sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) untuk mengevaluasi daya hambat senyawa antibakteri yang dihasilkan terhadap pertumbuhan bakteri *Pseudomonas aeruginosa*.
2. Perlu dilakukan analisis menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) untuk mengidentifikasi struktur kimia secara lebih mendalam.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Ansari, M., Kalaiyarasi, M., Almalki, M. A., and Vijayaraghavan, P. 2020. Optimization of medium components for the production of antimicrobial *and* anticancer secondary metabolites from *Streptomyces* sp. AS11 isolated from the marine environment. *Journal of King Saud University - Science*, 32(3), 1993–1998.
- Alhidayatullah, A., Aziz, A. A. P., dan Wahyuni, D. F. 2022. Aktivitas Antimikroba Actinomycetes Hasil Isolasi Sedimen Mangrove Asal Kecamatan Bontoa Terhadap *Sreptococcus mutans*. *Organisms: Journal of Biosciences*, 2(2), 95-100.
- Ali, A. R., Bahrami, Y., Kakaei, E., Mohammadzadeh, S., Bouk, S., and Jalilian, N. 2022. Isolation and identification of endophytic actinobacteria from *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad *and* their antibacterial properties. *Microbial Cell Factories*, 21(1), 206.
- Anggraeni, A., dan Triajie, H. 2020. Uji Kemampuan Bakteri (*Pseudomonas Aeruginosa*) Dalam Proses Biodegradasi Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb), Di Perairan Timur Kamal Kabupaten Bangkalan. *Juvenil: Jurnal Ilmiah Kelautan Dan Perikanan*, 2(3), 176–185.
- Arancibia, M. Y., Alemán, A., Calvo, M. M., López-Caballero, M. E., Montero, P., and Gómez-Guillén, M. C. 2014. Antimicrobial *and* antioxidant chitosan solutions enriched with active shrimp (*Litopenaeus vannamei*) waste materials. *Food Hydrocolloids*, 35, 710–717.
- Bastiaens, L., Soetemans, L., D'Hondt, E., and Elst, K. 2019. Sources of chitin and chitosan and their isolation. *Chitin and Chitosan: Properties and Applications*, 1–34.
- Batubara, N. R., Suryanto, D., Munir, E., and Rahmiati, R. 2022. Screening *and* Characterization of Chitinolytic Bacteria from Shrimp Waste. *Jurnal Pembelajaran Dan Biologi Nukleus*, 8(3), 744–753.

- Bayani, F., Sudiana, E., Hamdani, A. S., Wahyuni, I., Mujaddid, J., dan Hulyadi, H. 2023. Uji aktivitas antibakteri ekstrak daun *Bridelia micranth* lombok pada *Escherichia coli*. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*, 11(2), 1710–1723.
- Budi, M. B. S., Giyanto, G., and Tondok, E. T. 2022. Isolation of actinomycetes from peatland to suppress the growth of *Ganoderma boninense* the causal agent of basal stem rot disease in oil palm. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(11).
- CLSI. 2020. *M100 Performance Standards for Antimicrobial (30th Ed.)*. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- De Simeis, D., and Serra, S. 2021. Actinomycetes: A never-ending source of bioactive compounds an overview on antibiotics production. In *Antibiotics*, 10(5).
- Eguchi, R., Ono, N., Hirai Morita, A., Katsuragi, T., Nakamura, S., Huang, M., Altaf-Ul-Amin, Md., and Kanaya, S. 2019. Classification of alkaloids according to the starting substances of their biosynthetic pathways using graph convolutional neural networks. *BMC Bioinformatics*, 20(1), 380.
- 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.
- Gerungan, L. K. F. R. 2016. Penegakan Hukum Di Wilayah Perairan Indonesia. *Lex et Societatis*, 4(5).
- Guo, Z. K., Wang, Y. C., Tan, Y. Z., Abulaizi, A., Xiong, Z. J., Zhang, S. Q., Yang, Y., Yang, L. Y., and Shi, J. 2023. Nagimycins A and B, antibacterial ansamycin-related macrolactams from *Streptomyces* sp. NA07423. *Organic Letters*, 25(22), 4203–4207.
- Hashary, dan A Rufaidah. 2021. Potensi Actinomycetes Yang Diisolasi Dari Rhizosfer Pinus (*Pinus merkusii*) Asal Desa Limapocoe Kecamatan Cenrana Kabupaten Maros Sebagai Penghasil Antimikroba. *Jurnal Farmasi FKIK*, 9(2).
- Hazarika, S. N., and Thakur, D. 2020. Actinobacteria. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (443–476).
- Hesse, G. 1957. Chromatography. A Review of Principles and Applications, von E. und M. Lederer. *Angewandte Chemie*, 69(15), 520–520.
- Hood, P. K. E. 2020. *Understanding Pharmacology in Nursing Practice*. Springer International Publishing.
- Huang, W., Montroni, D., Wang, T., Murata, S., Arakaki, A., Nemoto, M., and Kisailus, D. 2022. Nanoarchitected Tough Biological Composites from

- Assembled Chitinous Scaffolds. *Accounts of Chemical Research*, 55(10), 1360–1371.
- Khadayat, K., Sherpa, D. D., Malla, K. P., Shrestha, S., Rana, N., Marasini, B. P., Khanal, S., Rayamajhee, B., Bhattarai, B. R., and Parajuli, N. 2020. Molecular Identification and Antimicrobial Potential of *Streptomyces* Species from Nepalese Soil. *International Journal of Microbiology*, 2020, 1–8.
- Khalid, H., Tariq, A., Jurrat, H., Musaddaq, R., Liaqat, I., and Muhammad, N. 2024. Actinomycetes: Ultimate Potential Source of Bioactive Compounds Production. *Futuristic Biotechnology*, 02–11.
- Kono, S., Tiopo, A. K., Pasingi, N., dan Kadim, M. K. 2021. Kelimpahan dan Indeks Ekologis Perifiton di Sungai Bone Kabupaten Bone Bolango Gorontalo. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, 5(3), 235.
- Kowalska-Krochmal, B., and Dudek-Wicher, R. 2021. The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens*, 10(2), 165.
- Kristanti, A. N., Aminah, N. S., Tanjung, M., dan Kurniadi, B. 2008. *Buku ajar fitokimia*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Kumar, S., Jyotirmayee, K., and Sarangi, M. 2013. Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 18(1): 126-132.
- Kurita, K. 2006. Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans. In *Marine Biotechnology*, 8(3), 203–226.
- 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(4), 334.
- Li, Q., Chen, X., Jiang, Y., and Jiang, C. 2016. Morphological Identification of Actinobacteria. In *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*.
- Lillsunde, P., and Korte, T. 2021. Thin-layer chromatographic screening and gas chromatographic/mass spectrometric confirmation in the analysis of abused drugs. In *Analysis of Addictive and Misused Drugs* (221–265). CRC Press.
- Liu, Z., Sun, W., Hu, Z., Wang, W., and Zhang, H. 2024. Marine Streptomyces-Derived Novel Alkaloids Discovered in the Past Decade. *Marine Drugs*, 22(1), 51.

- Madjowa, V., Olii, A. H., and Baruadi, A. S. R. 2020. Gorontalo Fishermen Knowledge Studies Related to Astronomy and the Movement of Fish in Tomini Bay. *Asian Journal of Fisheries and Aquatic Research*, 41–49.
- Mahatmanti, F. W., Kusumastuti, E., Jumaeri, J., Sulistyani, M., Susiyanti, A., Haryati, U., dan Dirgantari, P. S. 2022. Pembuatan Kitin Dan Kitosan Dari Limbah Cangkang Udang Sebagai Upaya Memanfaatkan Limbah Menjadi Material Maju. *Bookchapter Kimia Universitas Negeri Semarang, I*, 1–38.
- Mahomoodally, M. F., Bibi Sadeer, N., Zengin, G., Cziáky, Z., Jekő, J., Diuzheva, A., Sinan, K. I., Palaniveloo, K., Kim, D. H., and Rengasamy, K. R. R. 2020. In Vitro Enzyme Inhibitory Properties, Secondary Metabolite Profiles and Multivariate Analysis of Five Seaweeds. *Marine Drugs*, 18(4), 198.
- Manan, M. A., and Webb, C. 2017. Design aspects of solid state fermentation as applied to microbial bioprocessing. *J Appl Biotechnol Bioeng*, 4(1), 511–532.
- 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), 127–136.
- Maryani, Monalisa, S. S., dan Panjaitan, R. S. 2020. Efektivitas Ekstrak Daun Ketapang (*Terminalia catappa*) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Edwarsiella tarda* Pada Uji In Vitro. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 10(2): 196-208.
- Miranda. 2022. Uji Daya Hambat Pertumbuhan Mikroba Patogen Oleh *Streptomyces sp.* strain i18 Sebagai Agen Biokontrol. *Bioeksperimen: Jurnal Penelitian Biologi*, 8(2), 88-96.
- Moon, C., Seo, D.-J., Song, Y.-S., and Jung, W.-J. 2020. Antibacterial activity of various chitosan forms against *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 156, 1600–1605.
- Mustarichie, R., Sulistyaningsih, S., and Runadi, D. 2020. Antibacterial Activity Test of Extracts and Fractions of Cassava Leaves (*Manihot esculenta* Crantz) against Clinical Isolates of *Staphylococcus epidermidis* and *Propionibacterium acnes* Causing Acne. *International Journal of Microbiology*, 1–9.
- Nainggolan, K. N. 2023. Ekstraksi Enzimatik Kitin dan Kitosan dari Limbah Udang. *Manfish Journal*, 4(1), 50–71.
- Nicault, M., Zaiter, A., Dumarcay, S., Chaimbault, P., Gelhay, E., Leblond, P., and Bontemps, C. 2021. Elicitation of Antimicrobial Active Compounds by *Streptomyces*-Fungus Co-Cultures. *Microorganisms*, 9(1), 178.
- Nong, X. H., Tu, Z. C., and Qi, S. H. 2020. Ansamycin derivatives from the marine-derived *Streptomyces sp.* SCSGAA 0027 and their cytotoxic and

- antiviral activities. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 30(11), 127168.
- Nurwanti, S. W., Sarnoko, A., dan Wulandari, A. 2023. Identifikasi Senyawa Alkaloid dari Ekstrak Etanol Kulit Batang *Strychnos ligustrina* Menggunakan Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (LC-MS). *Journal Borneo*, 3(2), 64–71.
- Padja, F., Irma Polamolo, A., Khair Kadim, M., and Pasingi, N. 2021. Composition of the Macrozoobenthic in the River in Tolomato Village, Central Suwawa District, Bone Bolango Regency, Gorontalo Province. *Jurnal Sumberdaya Akuatik Indopasifik*, 5(3).
- Pan, C., Hassan, S. S. ul, Ishaq, M., Yan, S., and Jin, H. 2025. Marine actinomycetes: a hidden treasure trove for antibacterial discovery. *Frontiers in Marine Science*, 12.
- Parte, P. P., Rao, P., Redij, S., Lobo, V., D'Souza, S. J., Gajbhiye, R., and Kulkarni, V. 2012. Sperm phosphoproteome profiling by ultra performance liquid chromatography followed by data independent analysis (LC–MSE) reveals altered proteomic signatures in asthenozoospermia. *Journal of Proteomics*, 75(18), 5861–5871.
- Pasmawati. 2025. Review Artikel: Keragaman Actinomycetes Laut Indonesia Sebagai Sumber Senyawa Antibiotik Baru. *Jurnal Farmasi Sains Dan Terapan*, 11(2), 80–90.
- Poria, V., Rana, A., Kumari, A., Grewal, J., Pranaw, K., and Singh, S. 2021. Current Perspectives on Chitinolytic Enzymes and Their Agro-Industrial Applications. *Biology*, 10(12), 1319.
- Pramod, K., Deep, A. A., Pooja, K., and Singh, A. M. 2020. An overview: LC-MS as tool of sample extraction and quantification in bioanalytical laboratories. *Asian Journal of Pharmaceutical Analysis*, 10(3), 165.
- Rosamah, E. 2019. Kromatografi lapis tipis metode sederhana dalam analisis kimia tumbuhan berkayu. *Mulawarman University Presskalimantan Timur Samarinda*.
- Rossi, N., Grosso, C., and Delerue-Matos, C. 2024. Shrimp Waste Upcycling: Unveiling the Potential of Polysaccharides, Proteins, Carotenoids, and Fatty Acids with Emphasis on Extraction Techniques and Bioactive Properties. *Marine Drugs*, 22(4), 153.
- S. Kumar, K. Jyotirmayee, and Sarangi, M. 2013. Thin layer chromatography: A tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 18, 126–132.
- Salamah, N., dan Guntarti, A. 2023. *Analisis Instrumen: Kromatografi Dan Elektroforesis*. Uadpress.

- Sapkota, A., Thapa, A., Budhathoki, A., Sainju, M., Shrestha, P., and Aryal, S. 2020. Isolation, Characterization, and Screening of Antimicrobial-Producing Actinomycetes from Soil Samples. *International Journal of Microbiology*, 1–7.
- Sarkar, G., and Suthindhiran, K. 2022. Diversity and Biotechnological Potential of Marine Actinomycetes from India. *Indian Journal of Microbiology*, 62(4), 475–493.
- Sedijani, P., Khovia, N., Rasmi, D. A. C., and Kusmiyati. 2023. Fungal Crude Lipase Enzyme Produced Using the SSF (Solid State Fermentation) Method Increases The Washing Test Performance. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(1), 140–147.
- Setiawan, A., Lutfiah, R., Juliasih, N. L. G. R., Setiawan, W. A., Hendri, J., and Arai, M. 2022. Antibacterial activity of EtOAc extract from marine-derived fungus *Aspergillus nomiae* A12-RF against clinical pathogen bacteria, *Staphylococcus aureus*. *AACL Bioflux*, 15(3), 1413–1421.
- Setiawan, A., Setiawan, F., Juliasih, N. L. G. R., Widyastuti, W., Laila, A., Setiawan, W. A., Djailani, F. M., Mulyono, M., Hendri, J., and Arai, M. 2022. Fungicide Activity of Culture Extract from *Kocuria palustris* 19C38A1 against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Fungi*, 8(3).
- Setiawan, A., Widyastuti, W., Irawan, A., Wijaya, O. S., Laila, A., Setiawan, W. A., Juliasih, N. L. G. R., Nonaka, K., Arai, M., and Hendri, J. 2021. Solid state fermentation of shrimp shell waste using *Pseudonocardia carboxydvorans* 18A13O1 to produce bioactive metabolites. *Fermentation*, 7(4), 247.
- Singh, R. V., Sambyal, K., Negi, A., Sonwani, S., and Mahajan, R. 2021. Chitinases production: A robust enzyme and its industrial applications. *Biocatalysis and Biotransformation*, 39(3), 161–189.
- Siro, G., Pipite, A., Christi, K., Srinivasan, S., and Subramani, R. 2022. Marine Actinomycetes Associated with Stony Corals: A Potential Hotspot for Specialized Metabolites. *Microorganisms*, 10(7), 1349.
- Sivalingam, P., Hong, K., Pote, J., and Prabakar, K. 2019. Extreme Environment *Streptomyces*: Potential Sources for New Antibacterial and Anticancer Drug Leads. *International Journal of Microbiology*, 1–20.
- Soedarto. 2015. *Medical Microbiology*. Mikrobiologi Kedokteran.
- Soeka, Y. S., dan Triana, E. 2016. Pemanfaatan Limbah Kulit Udang untuk Menghasilkan Enzim Kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A454. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(01), 91–101.
- Srivastava, N., Singh, A., Kumari, P., Nishad, J. H., Gautam, V. S., Yadav, M., Bharti, R., Kumar, D., and Kharwar, R. N. 2021. Advances in extraction

- technologies: isolation and purification of bioactive compounds from biological materials. In *Natural Bioactive Compounds* (409–433).
- Subramani, R., and Sipkema, D. 2019. Marine Rare Actinomycetes: A Promising Source of Structurally Diverse and Unique Novel Natural Products. *Marine Drugs*, 17(5), 249.
- Supardan, A. D. 2022. Uji Toksisitas Hasil Fraksinasi Kolom Kromatografi Ekstrak Metanol Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl). *Jurnal Sains Terapan*, 12(1), 32–42.
- Talamona, A. 2005. *Laboratory chromatography guide*. Büchi Labortechnik AG.
- Thi, M. T. T., Wibowo, D., and Rehm, B. H. A. 2020. *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(22), 8671.
- Thomas, S. N., French, D., Jannetto, P. J., Rappold, B. A., and Clarke, W. A. 2022. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for clinical diagnostics. *Nature Reviews Methods Primers*, 2(1), 96.
- Tortora, U. 2004. *Staphylococcus dalam Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Binarupa Aksara.
- Tsani Ariandi, M. Z., Bahar, M., Yusmaini, H., Zulfa, F., Fauziah, C., and Pramesyanti, A. 2021. Effectiveness of Metabolite Substance Filtrates of Actinomycetes isolates from Kebun Raya Bogor against the growth of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella typhi*: In Vitro study. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 281–287.
- Varçin, M., Şener, B. B., and Bayraç, C. 2021. Adsorption of resazurin by poly (acrylic acid) hydrogels and evaluation of its use in reduction assay for quantification of cell viability. *Dyes and Pigments*, 186, 109038.
- Yafetto, L. 2022. Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020: A review and bibliometric analysis. *Heliyon*, 8(3), e09173.
- Yi, K.-X., Xie, Q.-Y., Ma, Q.-Y., Yang, L., Dai, H.-F., Zhao, Y.-X., and Hao, Y.-E. 2024. Diverse ansamycin derivatives from the marine-derived *Streptomyces* sp. ZYX-F-97 and their antibacterial activities. *Fitoterapia*, 173, 105814.
- Yuli, Purwani. E., Suhartono, M. T., Rukayadi, Y., Hwang, J. K., and Pyun, Y. R. 2004. Characteristics of thermostable chitinase enzymes from the Indonesian *Bacillus* sp.13.26. *Enzyme and Microbial Technology*, 35(2–3), 147–153.
- Zhu, X., Wu, X., Li, H., Zhang, M., Yu, D., Wang, Z., and Sun, P. 2025. Undescribed ansatrienin analogs from *Streptomyces flaveolus* including two N-acetylcysteine conjugates. *Phytochemistry*, 114598.