

**PENGARUH KADAR MOLASE DAN NH_4NO_3 TERHADAP
AKTIVITAS PENISILIN DARI KULTUR SEKALI UNDUH
*Penicillium chrysogenum***

SKRIPSI

**Diajukan kepada Program Studi Biologi
Fakultas Teknobiologi, Universitas Atma Jaya Yogyakarta
guna memenuhi sebagian syarat untuk memperoleh
derajat Sarjana S-1**

Disusun oleh :

**Dwi Aryanti
NPM : 020800846**



**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI
PROGRAM STUDI BIOLOGI
YOGYAKARTA
2010**

PENGESAHAN

Mengesahkan Skripsi dengan Judul

**PENGARUH KADAR MOLASE DAN NH_4NO_3 TERHADAP
AKTIVITAS PENISILIN DARI KULTUR SEKALI UNDUH
*Penicillium chrysogenum***

yang disiapkan dan disusun oleh:

Dwi Aryanti
NPM : 020800846

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada hari senin, tanggal 15 Maret 2010
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

SUSUNAN TIM PENGUJI

Pembimbing Utama,



(Dra. E. Mursyanti, M.Si)

Anggota Tim Penguji,



(Drs. F. Sinung Pranata, M.P)

Pembimbing Pendamping,

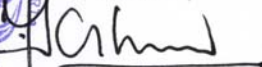


(Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc)

Yogyakarta, 30 Juni 2010

**UNIVERSITAS ATMA JAYA YOGYAKARTA
FAKULTAS TEKNOBIOLOGI**

Dekan,




(Drs. A. Wibowo Nugroho Jati, MS)



Ku Persembahkan Untuk

*Alm.Bapak, Mama, Adikku Tito dan Deddy Tercinta
Hangga dan Sahabat-sahabatku Tersayang*



*Aku mengagungkan Tuhan,
hatiku bersuka ria karena Allah, penyelamatku.
Sebab Ia memperhatikan daku, hambaNya yang hina ini.
Mulai sekarang aku disebut : yang bahagia, oleh sekalian bangsa.
Sebab perbuatan besar dikerjakan bagiku oleh Yang Mahakuasa;
kuduslah namaNya
(Luk 1 : 46-49)*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yesus Kristus atas anugrah dan perlindungan-Nya yang selalu menyertai Penulis dalam melaksanakan penelitian maupun menyusun skripsi yang berjudul **Pengaruh Kadar Molase dan NH_4NO_3 Terhadap Aktivitas Penisilin dari Kultur Sekali Unduh *Penicillium chrysogenum***. Skripsi ini dilaksanakan guna memenuhi syarat gelar sarjana (S1) pada jurusan Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta.

Penulisan naskah skripsi ini tidak terlepas dari bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Drs. A. Wibowo Nugroho Jati, MS, selaku Dekan Fakultas Teknobiologi Universitas Atma Jaya Yogyakarta,
2. Ibu Dra. E. Mursyanti, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah bersedia membimbing dan memberi dukungan serta masukan selama penelitian dan penulisan skripsi ini,
3. Bapak Drs. B. Boy Rahardjo Sidharta, M.Sc selaku dosen pembimbing pendamping yang telah mengarahkan dan memberi masukan kepada penulis,
4. Drs. F. Sinung Pranata, M.P selaku dosen penguji,
5. Direktur Utama PT. Madubaru Madukismo Yogyakarta
6. Segenap pihak di Universitas Atma Jaya Yogyakarta yang telah memberikan bantuan selama menempuh kuliah.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa dalam penulisan naskah skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan, namun penulis mengharapkan naskah skripsi ini akan menjadi lebih sempurna. Semoga naskah skripsi ini akan bermanfaat bagi semua pihak.

Yogyakarta, Maret 2010

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xii
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Perumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Penisilin dan Mikrobia Penghasil Penisilin	7
B. <i>Penicillium chrysogenum</i>	9
C. Pola Pertumbuhan <i>Penicillium chrysogenum</i>	11
D. Produksi Penisilin oleh <i>Penicillium chrysogenum</i>	13
E. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Penisilin	14
F. Medium Fermentasi	17
G. Molase sebagai Sumber C	19
H. Amonium Nitrat NH_4NO_3 sebagai Sumber N	21
I. Aktivitas Penisilin dan Pengukurannya	22
J. Mikrobia Uji	24
K. Hipotesis	26
	27

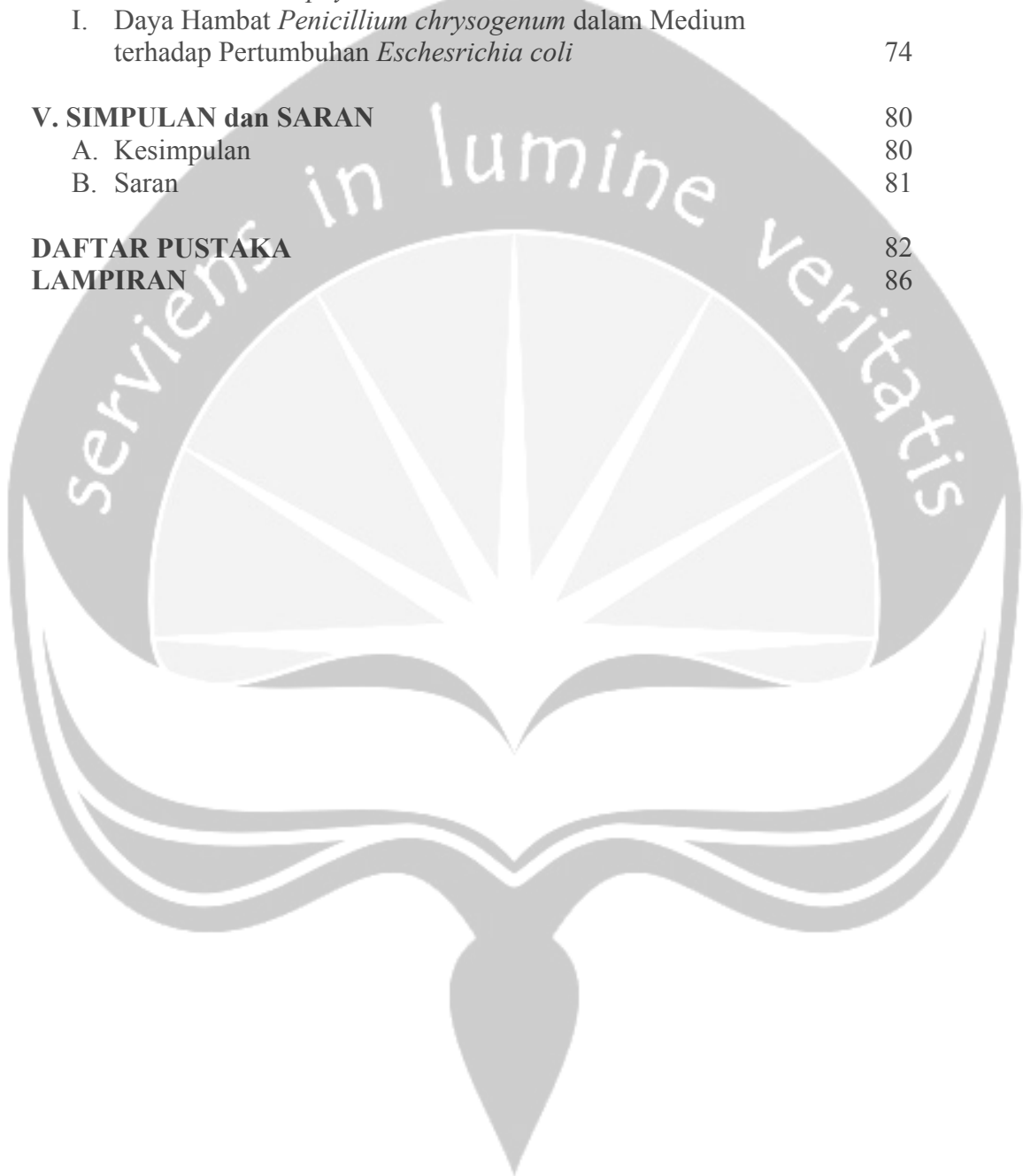
III. METODE PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian	27
B. Alat dan Bahan	27
C. Rancangan Percobaan	28
D. Tahapan Penelitian dan Cara Kerja	29
1. Pengambilan Sampel Molase	29
2. Pembuatan Medium	29
a. Pembuatan medium <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA)	29
b. Pembuatan medium <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB)	30
c. Pembuatan medium produksi	30
3. Uji kemurnian <i>Penicillium chrysogenum</i>	30
4. Uji kemurnian mikroorganisme uji	31
a) Isolasi mikroorganisme uji dengan cara goresan	31
b) Pengujian sifat Gram bakteri uji <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	31
5. Perbanyak Kultur Murni	32
6. Pembuatan Starter	33
7. Pembuatan kurva pertumbuhan berdasarkan berat kering sel	33
8. Parameter yang di ukur	34
a) Pengukuran biomasa sel	34
b) Pembuatan kurva glukosa standar dan penentuan gula reduksi sampel dengan metode <i>Nelson – Somogyi</i>	34
1) Penentuan kurva gula standar	35
2) Penentuan Gula Reduksi Sampel	36
c) Penentuan Kadar N Total dengan Metode semi-mikro Kjeldahl	36
d) Pengukuran pH	37
e) Uji Aktivitas Penisilin Berdasarkan Zona Penghambatan	38
1) Pemisahan filtrat dan biomasa sel	38
2) Pengujian aktivitas antibiotik penisilin	38
f) Analisis Data	39

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Molase sebagai Substrat Pertumbuhan	40
B. Morfologi sel dan Koloni Jamur <i>Penicillium chrysogenum</i> yang ditumbuhkan pada medium PDA	42
C. Uji kemurnian Bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	45
D. Penentuan Fase Stasioner Berdasarkan Pada Pola Pertumbuhan Sel <i>Penicillium chrysogenum</i>	48
E. Perubahan Derajat Keasaman (pH) Selama Pertumbuhan Sel <i>Penicillium chrysogenum</i>	59
F. Kadar Gula Reduksi Medium Selama Pertumbuhan <i>Penicillium chrysogenum</i>	63

G. Kandungan Nitrogen Medium Selama Pertumbuhan <i>Penicillium chrysogenum</i>	68
H. Daya Hambat <i>Penicillium chrysogenum</i> dalam Medium terhadap Pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>	71
I. Daya Hambat <i>Penicillium chrysogenum</i> dalam Medium terhadap Pertumbuhan <i>Escherichia coli</i>	74
V. SIMPULAN dan SARAN	80
A. Kesimpulan	80
B. Saran	81
DAFTAR PUSTAKA	82
LAMPIRAN	86



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi molase (tetes tebu)	21
Tabel 2. Rancangan percobaan perlakuan variasi kadar molase dan NH_4NO_3 dengan 3 kali ulangan.....	28
Tabel 3. Morfologi dan sifat biokimia <i>Staphylococcus aureus</i>	45
Tabel 4. Morfologi dan sifat biokimia <i>Escherichia coli</i>	47
Tabel 5. Berat kering <i>Penicillium chrysogenum</i> yang ditumbuhkan pada medium PDA dan medium produksi dengan variasi kadar molase dan NH_4NO_3 selama masa inkubasi.....	50
Tabel 6. Perubahan derajat keasaman (pH) medium produksi dengan variasi kadar molase dan NH_4NO_3 selama masa inkubasi.....	60
Tabel 7. Kadar gula reduksi medium pada awal inkubasi dan akhir inkubasi	64
Tabel 8. Kadar Nitrogen medium produksi pada awal inkubasi dan akhir Inkubasi.....	68
Tabel 9. Hasil pengukuran aktivitas penisilin pada substrat terhadap pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i> pada berbagai kombinasi perlakuan kadar molase dan NH_4NO_3 berdasarkan luas zona hambat (cm^2).....	72
Tabel 10. Hasil pengukuran aktivitas penisilin pada substrat terhadap pertumbuhan <i>Escherichia coli</i> pada berbagai kombinasi perlakuan kadar molase dan NH_4NO_3 berdasarkan luas zona hambat (cm^2).....	76

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur kimia penisilin	8
Gambar 2. Morfologi <i>Penicillium chrysogenum</i>	10
Gambar 3. Proses pembentukan nitrogen menjadi nitrat	22
Gambar 4. Mikrobis uji <i>Staphylococcus aureus</i>	25
Gambar 5. Mikrobis uji <i>Escherichia coli</i>	25
Gambar 6. Molase	41
Gambar 7. Morfologi jamur <i>Penicillium chrysogenum</i> umur 5 hari pada medium PDA	43
Gambar 8. Koloni jamur <i>Penicillium chrysogenum</i> yang ditumbuhkan pada medium PDA hari ke-5	44
Gambar 9. Sel <i>Staphylococcus aureus</i> umur 24 jam pada medium Nutrien agar dengan pengecatan Gram	46
Gambar 10. Sel <i>Escherichia coli</i> umur 24 jam pada medium Nutrien agar dengan pengecatan Gram	47
Gambar 11. Pola pertumbuhan <i>Penicillium chrysogenum</i> pada perlakuan berbagai kadar molase (%) dan NH_4NO_3 (%)	53
Gambar 12. Grafik perubahan derajat keasaman pH medium selama masa inkubasi 8 hari	62
Gambar 13. Kandungan Gula reduksi pada medium produksi <i>Penicillium chrysogenum</i>	66
Gambar 14. Kandungan Nitrogen pada medium produksi <i>Penicillium chrysogenum</i>	70
Gambar 15. Zona hambat bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	74
Gambar 16. Zona hambat bakteri <i>Escherichia coli</i>	78
Gambar 17. Luas zona hambat pada kontrol dan berbagai perlakuan kadar molase dan NH_4NO_3 terhadap bakteri uji <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	79

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Tabel 11. Hasil pengukuran OD untuk penentuan gula standar	86
Tabel 12. Hasil perhitungan gula reduksi.....	87
Tabel 13. ANAVA perubahan berat kering <i>Penicillium chrysogenum</i> selama masa inkubasi.....	88
Tabel 14. ANAVA perubahan pH medium <i>Penicillium chrysogenum</i> selama masa inkubasi.....	88
Tabel 15. ANAVA kadar gula reduksi medium pada awal inkubasi.....	88
Tabel 16. ANAVA kadar gula reduksi pada akhir inkubasi	89
Tabel 17. ANAVA kadar Nitrogen medium pada awal inkubasi	89
Tabel 18. ANAVA kadar Nitrogen pada akhir inkubasi.....	89
Tabel 19. ANAVA zona penghambat medium <i>Penicillium chrysogenum</i> terhadap pertumbuhan <i>Escherchia coli</i>	89
Tabel 20. ANAVA zona penghambat medium <i>Penicillium chrysogenum</i> terhadap pertumbuhan <i>Staphylococcus aureus</i>	90
Tabel 21. DMRT pengaruh perlakuan kadar molase dan NH_4NO_3 terhadap perubahan pH medium selama masa inkubasi.....	90
Tabel 22. DMRT pengaruh perlakuan kadar molase dan NH_4NO_3 terhadap perubahan pH medium selama masa inkubasi.....	91
Tabel 23. DMRT kadar gula reduksi pada akhir inkubasi.....	92
Tabel 24. DMRT kadar gula reduksi pada akhir inkubasi.....	93
Tabel 25. DMRT kadar nitrogen pada awal inkubasi.....	94
Tabel 26. DMRT kadar nitrogen pada awal inkubasi.....	95

Tabel 27.	DMRT Faktor perlakuan terhadap zona hambat Bakteri <i>Escherchia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> terhadap <i>Penicillium chrysogenum</i>	96
Tabel 28.	Hasil pengukuran biomassa sel <i>Penicillium chrysogenum</i> selama masa inkubasi 8 hari	97
Tabel 29.	Hasil pengukuran biomassa Sel <i>Penicillium chrysogenum</i> selama masa inkubasi 8 hari	99
Tabel 30.	Hasil Pengukuran Kadar Nitrogen.....	101
Gambar 18.	Grafik Kurva Standar Gula Reduksi.....	87
Gambar 19.	Kultur murni <i>Penicillium chrysogenum</i> yang ditumbuhkan pada medium PDA umur 6 hari.....	105
Gambar 20.	Koloni <i>Staphylococcus aureus</i> yang ditumbuhkan pada medium NA umur 24 jam	105
Gambar 21.	Koloni <i>Escherchia coli</i> yang ditumbuhkan pada medium NA umur 24 jam	106
Gambar 22.	Medium molase dengan penambahan variasi kadar NH_4NO_3 sebelum produksi penisilin (awal inkubasi).....	106
Gambar 23.	Medium molase dengan penambahan variasi kadar NH_4NO_3 setelah produksi penisilin (akhir inkubasi) dari berbagai perlakuan variasi kadar molase dan NH_4NO_3	107
Gambar 24.	Supernatan hasil produksi penisilin	107
Gambar 25.	Molase dalam tangki penampungan pabrik gula PT. Madubaru Madukismo Yogyakarta.....	108
Gambar 26.	Tangki penampungan molase pabrik gula PT. Madubaru Madukismo Yogyakarta.....	108

INTISARI

Molase merupakan substrat bagi pertumbuhan jamur *Penicillium chrysogenum* untuk menghasilkan penisilin karena merupakan sumber karbon dan mengandung asam pantotenat, tiamin, fosfor, dan sulfur. Amonium Nitrat (NH_4NO_3) berperan sebagai sumber N penyusun protein asam-asam nukleat dan koenzim yang berperan dalam proses biokimia serta pembentukan sel-sel baru. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui fase stasioner dari pertumbuhan jamur *Penicillium chrysogenum* yang ditumbuhkan pada medium produksi dengan penambahan kadar molase dan Amonium Nitrat (NH_4NO_3), sehingga dapat dihasilkan penisilin yang dapat menghambat secara optimal pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Faktor pertama dalam penelitian ini adalah variasi molase dengan kadar 4, 5, 6, dan 7%, sedangkan faktor kedua adalah variasi kadar NH_4NO_3 dengan kadar 1, 2, 3, dan 4%. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial ($4 \times 3 \times 3$) masing-masing perlakuan menggunakan ulangan 3 kali. Analisis data menggunakan ANAVA dan dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf $\alpha = 0,05$. Tahapan penelitian terdiri dari pengambilan sampel molase, pembuatan medium uji, uji kemurnian, perbanyakan kultur murni, pembuatan medium produksi, pengukuran biomassa, penentuan kadar gula reduksi, kadar N-total, pengukuran pH dan uji aktivitas penisilin berdasarkan zona hambat. Hasil dari penelitian ini diketahui Penisilin yang ditumbuhkan pada substrat kadar molase 5% dengan penambahan kadar NH_4NO_3 2 dan 3% telah mencapai fase stasioner pada jam ke- 140 masa inkubasi. Aktivitas penisilin dari perlakuan kadar molase 7% dengan hambat NH_4NO_3 1% memiliki luas zona penghambat untuk kedua mikrobial uji *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* paling besar yaitu 0,500 dan 0,422 cm^2 .