

## II. TINJAUAN PUSTAKA

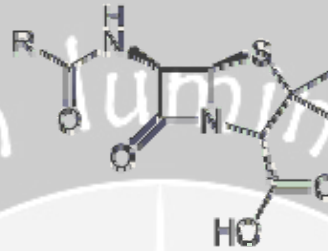
### A. Penisilin dan Mikrobia Penghasil Penisilin

Antibiotika adalah bahan-bahan bersumber hayati yang pada kadar rendah dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Penisilin merupakan salah satu jenis antibiotik yang dihasilkan oleh *Penicillium* (Schlegel dan Schmid, 1984). Penisilin merupakan kelompok antibiotik yang ditandai oleh adanya cincin  $\beta$ -laktam dan diproduksi oleh berbagai jenis jamur (eukariot) yaitu dari jenis *Penicillium*, *Aspergillus*, serta oleh beberapa prokariot tertentu (Madigan *et al.*, 2000). Sifat unik pada masing-masing penisilin ditentukan oleh adanya rantai samping yang berbeda-beda. Secara kimia penisilin digolongkan ke dalam antibiotik  $\beta$ -laktam (Pelczar dan Chan, 1988).

Omura (1995) dalam Demain (1996) menyatakan bahwa kira-kira 10.000 metabolit sekunder telah ditemukan struktur kimianya yang tersusun oleh cincin  $\beta$ -laktam, peptida siklik yang terdiri dari asam amino dan senyawa nonprotein, gula dan nukleosida, ikatan tidak jenuh dari poliasetilen dan polien, serta cincin makrolida besar. Struktur kimia penisilin dapat dilihat pada Gambar 1.

Penisilin diproduksi oleh beberapa jenis jamur antara lain jamur *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*, dan lain-lain, serta beberapa jenis *Streptomyces* (Pyatkin, 1967; Brakhage, 1998).

*Penicillium chrysogenum* adalah salah satu mikroorganisme yang penting dalam bidang industri terutama dalam menghasilkan penisilin yang merupakan salah satu antibiotik komersil yang utama (Pyatkin, 1967; Brakhage, 1998).



Gambar 1. Struktur kimia penisilin (Sumber : Anonim, 2005)

Penisilin aktif melawan pertumbuhan banyak spesies bakteri, terutama bakteri yang bersifat Gram positif dan bakteri Gram negatif (Volk dan Wheeler, 1993). Menurut Atlas (1988), penisilin yang efektif terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif mempunyai spektrum luas atau *broad spectrum*.

Menurut Waluyo (2004), sifat-sifat yang dimiliki penisilin sebagai berikut:

1. Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak inang (*host*),
2. Bersifat bakterisida dan bukan bakteriostatik,
3. Tidak menyebabkan resistensi pada kuman,
4. Berspektrum luas, yaitu dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif,
5. Tidak bersifat alergenik atau menimbulkan efek samping bila dipergunakan dalam jangka waktu lama,
6. Tetap aktif dalam plasma, cairan badan atau eksudat,
7. Larut dalam air serta stabil.

## **B. *Penicillium chrysogenum***

Jamur sangat memerlukan bahan makanan yang berbentuk zat organik, selain faktor atau keadaan lingkungan tertentu, seperti suhu dan pH. Jamur diketahui tidak berklorofil dan tidak mampu mensintesis makanan sendiri, sehingga bersifat heterotrof (Makfoeld, 1993).

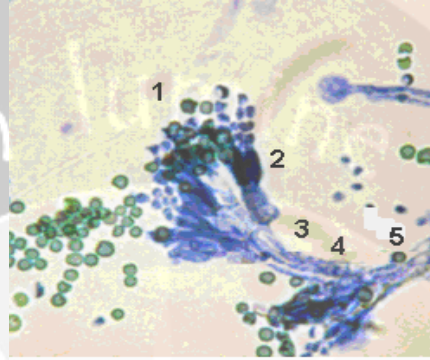
Jamur tergolong dalam Eumycetes atau fungi sejati dan terdiri atas empat kelas yaitu Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes, dan Deuteromycetes (*Fungi Imperfecti*). *Penicillium* bersama-sama dengan *Aspergillus* merupakan anggota dari kelas Deuteromycetes. *Penicillium* memiliki ujung konidiofor yang tidak melebar melainkan bercabang-cabang dengan deretan konidium. Kelompok ini meliputi genus yang membentuk konidium dengan struktur yang disebut penicillus (Rahayu *et al.*, 1989).

*Penicillium chrysogenum* merupakan kapang (jamur) yang sangat penting dalam industri fermentasi untuk menghasilkan penisilin. Klasifikasi *Penicillium chrysogenum* menurut Anonim (2005) adalah sebagai berikut :

Phyllum	: Ascomycota
Classis	: Euascomycetes
Ordo	: Eurotiales
Familia	: Trichomaceae
Genus	: <i>Penicillium</i>
Species	: <i>Penicillium chrysogenum</i>

Ciri-ciri spesifik *Penicillium* adalah hifa bersekat atau septet, miselium bercabang, biasanya tidak berwarna, konidiofora bersekat atau septet dan muncul di atas permukaan yang berasal dari hifa di bawah permukaan hifa bercabang atau tidak bercabang, kepala hifa yang membawa spora berbentuk seperti sapu, dengan sterigmata muncul dalam

kelompok, konidium berbentuk rantai karena muncul satu per satu dari sterigmata. Konidium pada waktu masih muda berwarna hijau, kemudian berubah menjadi kebiruan atau kecokelatan (Fardiaz, 1992). Morfologi *P.chrysogenum* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi *P. chrysogenum* (Sumber: Anonim, 2003)  
Keterangan :

1. Konidium
2. Sterigmata
3. Metulla
4. Cabang
5. Konodiofor

Koloni *Penicillium chrysogenum* tumbuh baik pada medium *Czapek's Dox*, diameter mencapai 4-5 cm dalam waktu 10 hari (25°C), memiliki permukaan seperti kapas, dan berwarna hijau kekuningan atau hijau agak biru pucat, sedangkan bila berumur tua warna akan semakin gelap (Gandjar *et al.*, 1999). Menurut Pitt dan Hocking (1979), koloni *Penicillium chrysogenum* tumbuh secara cepat di atas medium standar pada 25°C, dan pada *Czapek's Yeast Agar* (CYA) menghasilkan *blue-green* konidium.

### C. Pola Pertumbuhan *Penicillium chrysogenum*

Definisi pertumbuhan pada organisme multiseluler (termasuk jamur) adalah peningkatan jumlah sel per organisme, sehingga ukuran sel juga menjadi lebih besar.

*Penicillin chrysogenum* yang ditumbuhkan pada konsentrasi air lindi dan gula tebu selama 6 hari inkubasi belum mencapai fase stasioner (Aritonang, 2006). Menurut Crueger dan Crueger (1990), produksi penisilin dengan *Penicillium chrysogenum* berlangsung dari 0 sampai 140 jam (sekitar 5-6 hari). Pemberian nutrien dalam berbagai komponen dalam medium kultur akan memperpanjang tahap produksi penisilin dari 120 sampai 180 jam (Crueger dan Crueger, 1990). Pola pertumbuhan *Penicillium chrysogenum* pada limbah tembakau (*clove*) 60% dengan penambahan variasi kadar gula tebu menunjukkan awal fase stasioner diduga berlangsung pada hari ke-6 masa inkubasi dan terjadi sangat singkat (Kristiyanti, 2007). Pola pertumbuhan mikrobial terbagi atas empat fase, yaitu fase lag, fase ekponensial, fase satasioner dan fase kematian. Menurut Fardiaz (1992), pertumbuhan mikrobial dalam suatu medium diikuti dalam waktu pengamatan yang cukup lama, maka dapat digambarkan dalam bentuk pola atau fase pertumbuhan yang meliputi :

- a. Fase adaptasi yaitu fase pada saat mikrobial menyesuaikan diri dengan lingkungan baru dan sel-sel mulai membesar tetapi belum membelah diri,
- b. Fase pertumbuhan dipercepat yaitu fase saat mikrobial mulai membelah diri tetapi waktu generasi masih panjang,
- c. Fase pertumbuhan logaritma yaitu fase saat kecepatan pembelahan sel paling tinggi dan waktu generasi pendek,
- d. Fase pertumbuhan yang mulai menghambat, yaitu fase saat kecepatan pembelahan sel mulai berkurang, jumlah mikrobial yang mati bertambah banyak karena nutrien mulai berkurang,

- e. Fase stasioner yaitu fase pertumbuhan saat kadar nutrisi semakin berkurang dan sel tidak tumbuh lagi,
- f. Fase kematian dipercepat yaitu fase saat kecepatan kematian meningkat terus dan kecepatan pembelahan sel menjadi nol.

Menurut Jutono *et al.*, (1980), pertumbuhan mikrobia di dalam suatu suspensi atau bahan dapat diukur dengan beberapa cara, yaitu perhitungan massa sel secara langsung dan secara tidak langsung. Perhitungan jumlah mikrobia secara langsung dipakai untuk menentukan jumlah mikrobia keseluruhan baik yang mati maupun yang hidup, dengan cara, yaitu menggunakan *counting chamber*, pengamatan, dan pengamatan mikroskopik menggunakan filter membran.

Perhitungan jumlah mikrobia secara tidak langsung dipakai untuk menentukan jumlah mikrobia keseluruhan baik yang hidup maupun yang mati atau hanya untuk menentukan jumlah mikrobia yang hidup saja, tergantung pada cara yang digunakan. Beberapa metode yang digunakan adalah menggunakan sentrifuge, turbidimetrik berdasarkan analisis kimia, berat kering, cara pengenceran, *Most Probable Number* (MPN), dan berdasarkan jumlah koloni (*plate count*) (Jutono *et al.*, 1980).

Perhitungan secara turbidimetrik atau perhitungan secara langsung massa sel atau filamen miselium sampel dalam suatu volume tertentu. Dalam penentuannya, sampel mula-mula disentrifugasi atau disaring lalu dicuci, dikeringkan dan ditimbang beratnya. Perhitungan secara langsung sering digunakan untuk pengukuran sel selama proses fermentasi (Waluyo, 2009).

#### **D. Produksi Penisilin oleh *Penicillium chrysogenum***

Produksi penisilin oleh jamur *Penicillium chrysogenum* terjadi selama fase stasioner sehingga dikenal sebagai metabolit sekunder. Dalam metabolit sekunder ini terdapat fase pertumbuhan (tropofase) dan fase pembentukan produk (idiofase). Kebanyakan produk diproduksi setelah pertumbuhan masuk dalam fase stasioner (Madigan *et al.*, 2000).

Menurut Crueger dan Crueger (1990), produksi penisilin dengan *Penicillium chrysogenum* berlangsung dari 0 sampai 140 jam (sekitar 5-6 hari). Fase pertumbuhan *Penicillium chrysogenum* mempunyai jangka waktu sekitar 40 jam, selama waktu tersebut medium akan digunakan untuk pembentukan massa sel. Selanjutnya setelah 40 jam, medium digunakan untuk produksi penisilin. Tahap produksi penisilin dapat diperluas dari 120 sampai 180 jam apabila digunakan menambah nutrisi seperti glukosa dan nitrogen dalam berbagai komponen medium kultur.

Penisilin yang dihasilkan oleh *Penicillium chrysogenum* merupakan hasil metabolit sekunder yang bersifat ekstraseluler. Penisilin yang akan dikeluarkan dari sel dan terakumulasi di dalam medium fermentasi, sehingga perlu dilakukan purifikasi (Crueger dan Crueger, 1990).

#### **E. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Produksi Penisilin.**

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikrobia adalah tersedianya nutrisi, air, suhu, oksigen, pH, adanya zat-zat penghambat, dan adanya mikrobia lain (Fardiaz, 1992).

Pembentukan biomassa oleh ketersediaan nutrisi dalam medium dan keadaan lingkungan sekitar. *Penicillium chrysogenum* memerlukan sumber C organik dalam jumlah sekitar 4-5% (Makfoeld, 1993). Sumber karbon yang terkandung dalam medium pertumbuhan akan digunakan untuk memperbanyak biomassa miselium kira-kira 65%, untuk pertumbuhan sel kira-kira 25% dan untuk pembentukan produk kira-kira 10% (Cruger dan Cruger, 1990). Sumber N bagi pertumbuhan mikrobia diperlukan untuk sintesis berbagai senyawa sel yang penting termasuk asam amino, protein, asam nukleat, dan beberapa vitamin (Garaway dan Evans, 1984).

Air sangat vital artinya bagi kehidupan mikroorganisme karena semua aktivitas metabolisme terjadi dalam substrat yang mengandung air bebas. Tiap jenis mikrobia mempunyai kelembaban optimum tertentu, pada umumnya khamir dan bakteri membutuhkan kelembaban yang lebih tinggi dibanding jamur (Hidayat *et al.*, 2006). Tidak semua air dalam medium digunakan oleh mikrobia, air yang digunakan disebut air bebas. Ketersediaan air yang dapat digunakan oleh mikrobia sering dinyatakan dengan aktivitas air ( $a_w$ ) yaitu nilai perbandingan antara tekanan uap air dengan tekanan uap murni. Nilai  $a_w$  untuk bakteri antar 0,90 sampai 0,99 namun bakteri halofil memiliki  $a_w$  0,75 (Hidayat *et al.*, 2006).



Suhu merupakan salah satu faktor penting dalam kehidupan mikrobia. Beberapa mikrobia dalam kisaran suhu yang luas. Berkaitan dengan suhu pertumbuhan dikenal suhu minimum, maksimum dan optimum. Suhu minimum adalah suhu terendah dimana kegiatan mikrobia masih berlangsung. Suhu maksimum adalah suhu tertinggi yang masih dapat menumbuhkan mikrobia tetapi pada tingkat kegiatan fisiologi yang rendah. Sedangkan suhu optimum adalah suhu paling baik untuk pertumbuhan mikrobia. Menurut Waluyo (2004), kebanyakan kapang bersifat mesofilik, yaitu mampu tumbuh baik pada suhu kamar. Suhu optimum untuk produksi penisilin oleh *Penicillium chrysogenum* dan kapang lainnya dalam memproduksi penisilin berkisar antara 24-30°C.

Oksigen merupakan unsur yang terdapat dalam molekul hayati seperti asam amino, nukleotida dan gliserida. Kebutuhan oksigen dipenuhi bersama dengan masuknya molekul lain seperti protein dan lipid. Disamping itu, oksigen dalam bentuk O<sub>2</sub> juga diperlukan untuk menjalankan respirasi aerobik. Aerasi dan agitasi (pengadukan) diperlukan untuk mensuplai oksigen bagi aktivitas metabolik mikrobia. Jumlah oksigen yang kurang dari kebutuhan minimal akan menghambat pertumbuhan sel dan sintesis produk. Volume penyerapan oksigen minimum dalam fermentasi penisilin berkisar antara 0,4-0,8 mM/L. Kecepatan agitasi yang digunakan dengan berbagai macam turbin, yaitu sekitar 120-150 rpm (Crueger dan Crueger, 1990).

Konsentrasi ion hidrogen (pH) atau derajat keasaman sangat memengaruhi pertumbuhan mikrobia karena nilai pH sangat menentukan aktivitas enzim. Selama pertumbuhan mikrobia dapat menyebabkan perubahan pH medium sehingga tidak sesuai lagi untuk pertumbuhan, karena itu diperlukan *buffer* di dalam medium untuk mencegah

perubahan pH. Menurut Fardiaz (1988), Kontrol pH dalam fermentasi sangat penting dilakukan karna pH yang optimum harus tetap di pertahankan, kapang mempunyai kisaran pH untuk pertumbuhan 3-8,5. Menurut Waluyo (2004), kebanyakan kapang dapat tumbuh baik pada pH 2,0-8,5, tetapi biasanya pertumbuhan akan baik pada kondisi pH rendah atau asam. Kebanyakan spesies fungi dapat tumbuh dalam rentang pH yang lebih lebar dari sangat asam sampai sangat alkali. Dalam biakan fungi dapat tumbuh pada pH 2-3 dan beberapa cenderung masih aktif pada pH 9 atau lebih, seperti antibiotik yang terkenal yaitu *Penicilium* (penisilin), groseofulvin, *Chepolasaparium* (sapalossporin), *Aspergillus* (Fumigasi), *Chaetomium* (chetomin), *Fusarium* (javanisilin), dan *Trocoderma* (Gliotoxin) (Suwandi, 1989).

Beberapa jenis jamur memproduksi komponen penghambat bagi mikrobia lainnya, misalnya *Penicillium chrysogenum* dengan memproduksi penisilin. Aktivitas penisilin dari *Penicillium chrysogenum* mampu menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, ditunjukkan dengan luas zona hambat yang diperoleh pada konsentrasi air lindi 45% dengan penambahan konsentrasi gula tebu 6% yaitu sebesar 0,833 dan 0,145 cm<sup>2</sup> (Aritonang, 2006). Beberapa komponen kimia bersifat mikrostatik, menghambat pertumbuhan jamur misal asam sorbat, propianat, asetat atau fungisida yang mematikan jamur (Hidayat *et al.*, 2006).

## **F. Medium Fermentasi**

Medium fermentasi adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran nutrisi atau zat-zat hara yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme di permukaan atau di

dalam medium. Selain itu, medium dapat dipergunakan pula untuk isolasi, perbanyakan kultur, pengujian sifat-sifat biologis dan perhitungan jumlah mikroorganisme. Zat hara yang digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme, dan pergerakan. Lazimnya, medium biakan berisi sumber energi, air, zat hara sebagai sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, oksigen, serta hidrogen (Waluyo, 2004).

Sumber energi digunakan untuk kegiatan biosintesis sel, transport nutrisi ke dalam sel, dan vitalitas memerlukan energi. Energi ini dapat diperoleh dari cahaya matahari atau dari oksidasi senyawa kimia. Terlepas dari sumber energi yang digunakan, mikrobia akan mengubah energi yang diperoleh menjadi senyawa pembawa energi yaitu ATP yang dipakai untuk kegiatan sel (Suharni *et al.*, 2008).

Semua aktivitas metabolisme terjadi dalam substrat yang mengandung air bebas. Oleh karena itu, air sangat vital artinya bagi kehidupan mikroorganisme. Aktivitas air suatu medium dapat dihitung dengan menentukan nilai kelembaban relatif. Tiap jenis mikrobia mempunyai kelembaban optimum tertentu, pada umumnya khamir dan bakteri membutuhkan kelembaban yang lebih tinggi dibanding jamur (Hidayat *et al.*, 2006).

Unsur karbon terdapat dalam semua makromolekul penyusun sel, misalnya protein, karbohidrat, asam nukleat, dan lipid. Semua molekul yang mengandung karbohidrat ini terlibat dalam proses metabolisme. Karbon merupakan unsur yang paling penting, berdasarkan berat mikrobia sekitar 50% berat mikrobia adalah karbon sedangkan konsentrasi nitrogen 3-15% (Hidayat *et al.*, 2006). Oleh karena itu karbon merupakan bahan paling besar pada medium kultur.

Nitrogen diperlukan untuk mensintesis asam amino, nuklotida dan vitamin. Keperluan akan nitrogen dapat dipenuhi dalam berbagai bentuk, misal protein atau polipeptida, garam nitrat atau amonium, bahkan ada mikroba yang dapat mengambil dalam bentuk  $N_2$ . Pada organisme yang sedang tumbuh, protein tersebut berguna untuk penyusunan senyawa-senyawa biomolekuler yang berperan dalam proses biokimia dan pembentukan sel-sel baru (Pirselova *et al.*, 1993).

Kebutuhan sulfur dan fosfor umumnya dalam bentuk fosfat dan sulfat dan dalam bentuk yang besar, sekitar 0,5 g/l (Hidayat *et al.*, 2006). Sulfur diperlukan untuk membentuk asam amino metionin dan sistein, serta koenzim. Mikrobia dapat memperoleh sulfur dalam bentuk  $H_2S$ , granular sulfur, tiofosfat dalam bentuk bahan organik. Fosfor diperlukan untuk membuat asam nukleat, fosfolipid, dan koenzim. Mikrobia dapat mengambil fosfor dalam bentuk anorganik, maupun organik. Garam fosfor sebagai sumber yang paling sering digunakan sebagai sumber fosfat.

Kebutuhan hidrogen dan oksigen sangat diperlukan selama proses pertumbuhan mikrobia. Konsentrasi ion hidrogen sangat sangat memengaruhi aktivitas enzim mikrobia. Sistem transpor elektron dan sistem transpor nutrisi pada membran sel sangat peka terhadap konsentrasi ion hidrogen. Kebutuhan oksigen dapat dipenuhi bersamaan dengan masuknya molekul lain seperti protein dan lipid. Di samping itu, oksigen dalam bentuk  $O_2$  juga diperlukan untuk menjalankan respirasi aerobik (Hidayat *et al.*, 2006).

Medium biakan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam bentuk padat, semi padat, dan cair. Medium padat diperoleh dengan menambahkan agar. Agar berasal dari ganggang merah, digunakan sebagai pematat karena tidak dapat diurai

oleh mikroba, dan membeku pada suhu 45<sup>0</sup>C. Kandungan agar sebagai bahan pematid dalam medium adalah 1,5-2,0 %. ( Waluyo, 2004).

Pertumbuhan mikroorganism dalam medium dapat tumbuh dengan baik apabila memenuhi persyaratan antara lain (Waluyo, 2004) :

1. Medium harus mengandung semua nutrien yang mudah digunakan untuk mikroorganism.
2. Medium harus mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan, pH yang sesuai dengan pertumbuhan mikroorganism.
3. Medium tidak mengandung zat-zat penghambat pertumbuhan mikroorganism.
4. Medium harus steril sebelum digunakan agar dapat tumbuh dengan baik.

#### **G. Molase Sebagai Sumber C**

Molase atau tetes tebu merupakan bahan baku utama untuk proses pembuatan alkohol dan spiritus. Molase merupakan sirup gula yang tidak mengkristal dari hasil proses kristalisasi pada pabrik gula. Molase merupakan hasil samping dari industri gula yang berwarna coklat karena proses karamelisasi yang biasanya disebut *motherliquor*. Kandungan yang ada pada molase ini banyak sekali antara lain mengandung senyawa nitrogen, vitamin, dan senyawa-senyawa lain. Molase mempunyai pH 5,5-6,5 bersifat agak asam yang disebabkan karena adanya asam organik bebas serta kondisi operasi pemrosesan gula (Anonim, 1998).

Menurut Anonim (1998), molase memiliki kualitas yang bervariasi tergantung dari bahan mentah yang digunakan untuk produksi pabrik gula yaitu tebu. Kualitas molase dipengaruhi oleh beberapa hal :

1. Cara pemurnian nira, bila kurang sempurna maka kotoran-kotoran akan terikut dalam tetes,
2. Penanaman tebu yaitu lokasi tempat tumbuh tebu dan kondisi iklim pada waktu tanam.

Molase yang berasal dari pabrik gula tidak langsung digunakan dalam proses produksi alkohol tetapi harus melalui beberapa hal. Molase yang digunakan pabrik Madukismo sebagai bahan baku pembuatan alkohol dan spirtus ditampung di dalam tangki-tangki penyimpanan. Pada masa penyimpanan ini diharapkan molase tersebut tidak banyak mengalami perubahan sifat, baik sifat fisik maupun kimianya (Anonim, 1998).

Sifat-sifat fisik molase antara lain : mempunyai derajat brix  $\pm 90^{\circ}$  , *range* berat jenis 1,4-1,5 kg/lit, total gula dalam molase 57,85%, kadar sakarosa 37,98%, kadar glukosa 17,87, glukosa dalam sakarosa 39,98, kadar abu 10,87%, dan kadar glutosa 4,16%. Komposisi molase secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi molase (tetes tebu)

No	Komponen	Rentang (% berat)	Rata-rata (% berat)
1	Air	17-25	20
2	Sukrosa	30-40	35
3	Dekstrosa	4-9	7
4	Levulosa	5-21	4
5	Substansi tereduksi lain	1-5	3
6	Karbohidrat lain	2-5	4
7	Abu	7-15	12
8	Komponen bernitrogen	2-6	4,5
9	Asam-asam tak bernitrogen	2-8	5
10	Lilin, steroid, pospolipid	0,1-1	0,4
11	Impuritas	0,05-0,15	0,1

(Sumber : Anonim, 1998)

#### H. Amonium Nitrat $\text{NH}_4\text{NO}_3$ sebagai Sumber N

Nitrogen adalah nutrien penting dalam sistem biologik. Nitrogen mengisi sekitar 12% protoplasma bakteri dan 5-6% protoplasma kapang (Jeni dan Rahayu, 1993). Fungsi dari nitrogen adalah sebagai penyusun protein asam-asam nukleat dan koenzim. Pada organisme yang sedang tumbuh, protein tersebut berguna untuk penyusunan senyawa-senyawa biomolekuler yang berperan dalam proses biokimia dan pembentukan sel-sel baru (Pirselova *et al.*, 1993). Menurut Stanbury dan Whitaker (1984), nitrogen yang dibutuhkan bagi fungi sekitar 7-10 % dari berat miselium.

Menurut Schlegel dan Schmidt (1984), sumber nitrogen yang lazim digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme adalah garam-garam amonium. Mikroorganisme umumnya memerlukan asam-asam amino sebagai sumber nitrogen. Pada sistem biologi, senyawa nitrogen organik dapat ditransformasikan menjadi nitrogen dalam bentuk

amonium dan dioksidasikan menjadi nitrogen dalam bentuk nitrit dan nitrat. Secara skematis proses pembentukan nitrogen menjadi nitrat dapat dilihat sebagai berikut :



Gambar 3. Proses pembentukan nitrogen menjadi nitrat  
(sumber: Schlegel dan Schmidt, 1984).

### I. Aktifitas Penisilin dan Pengukurannya

Menurut Volk dan Wheeler (1993), efek bakteriosida dari penisilin yaitu mengganggu sintesis peptidoglikan dinding sel sehingga membran sel mekah dan menghamburkan isi sel. Penisilin menghambat pembentukan dinding sel dengan cara mencegah digabungkannya asam N-asetilmuramat, yang dibentuk di dalam sel, yang biasanya memberi bentuk kaku pada dinding sel bakteri. Mekanisme kerja ini konsisten dengan kenyataan bahwa penisilin hanya bekerja pada bakteri yang sedang tumbuh aktif (Pelczar dan Chan, 1998). Penisilin yang efektif digunakan pada banyak spesies bakteri, seperti bakteri Gram negatif yang dikenal dengan sebutan penisilin yang mempunyai spektrum luas atau *broad spectrum* (Atlas, 1988).

Pengukuran aktivitas antimikrobia dapat diukur dengan mendeterminasi jumlah paling kecil senyawa untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diuji, disebut dengan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC). Nilai MIC ditentukan dari kadar minimum yang bisa menghambat pertumbuhan mikrobial, tetapi MIC tidak konstan karena tergantung dari sifat alami mikrobial uji, ukuran inokulum, komposisi medium kultur, waktu inkubasi, dan kondisi inkubasi, seperti suhu, pH, dan aerasi. Metode lain



yang digunakan untuk mengukur aktivitas antimikrobia adalah dengan metode difusi agar, yaitu dengan pembentukan zona penghambat. Sejumlah senyawa tertentu ditambahkan dengan menggunakan kertas saring (*paper disc*) kemudian ditempatkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi dengan organisme uji. Kelebihan dari metode difusi agar ini adalah bahwa aktifitas penisilin langsung dapat dilihat dengan adanya zona hambatan, sehingga metode ini sering digunakan untuk menguji aktivitas penisilin terhadap organisme patogen (Madigan *et al.*, 2000).

Menurut Madigan *et al.*, (2000), efek senyawa antimikrobia pada mikrobia yang ditumbuhkan pada saat kultur mencapai pertumbuhan eksponensial, yaitu ada 3 macam :

1. Efek statik, yaitu menghambat pertumbuhan sel tetapi tidak mematikan, serta sering menghambat sintesis protein dan biasanya mengikat ribosom (ikatan yang terjadi tidak kuat dan ketika konsentrasi diturunkan maka sel akan lepas dari ribosom dan pertumbuhan akan dilanjutkan kembali),
2. Efek sidal, yaitu membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel, biasanya terikat kuat pada target selular dan tidak dapat dihilangkan dengan pengenceran,
3. Efek litik, yaitu membunuh sel dengan diikuti terjadinya lisis sel, jumlah sel akan menurun, dan menghambat sintesis dinding sel.

## **J. Mikrobia Uji**

Mikrobia uji digunakan untuk melihat adanya aktivitas antimikrobia penisilin yang dihasilkan oleh *Penicillium chrysogenum*. Mikrobia dapat digunakan sebagai mikrobia

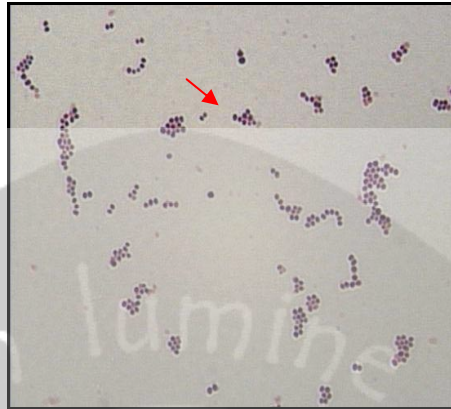
uji jika mikrobia tersebut bersifat patogen terhadap manusia sehingga perlu usaha untuk menghambat pertumbuhannya, mikrobia dapat mewakili kelompok bakteri Gram positif dan negatif karena sasaran utama penisilin adalah menghambat sintesis dinding sel dan mikrobia tersebut mudah dipelihara.

Pengelompokan Gram positif dan negatif didasarkan pada perbedaan dinding sel. Bakteri Gram positif memiliki berlapis-lapis peptidoglikan sedangkan bakteri Gram negatif terdiri dari beberapa lapis peptidoglikan dan membran luar (Madigan *et al.*, 2000). Mikrobia uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Keduanya termasuk jenis bakteri patogen terhadap manusia dan mewakili kelompok bakteri Gram positif dan negatif (Waluyo, 2004). Morfologi mikrobia uji ini, antara lain :

a. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* dapat ditemukan di kulit, hidung manusia dan ada kalanya dapat menyebabkan infeksi. Infeksi yang disebabkan di golongkan sebagai penyakit menular/lokal (biasanya) atau menyebar (jarang) (Jawetz dan Ernest, 1996).

Menurut Budiyanto (2002), *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif berbentuk bola dengan garis tengah 0,8-1 $\mu$ , tersusun dalam kelompok-kelompok tidak teratur, tidak motil, dan tidak membentuk spora. Di bawah pengaruh zat-zat kimia tertentu (misalnya penisilin) bakteri ini dapat dilisiskan. Mikroba uji *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada Gambar 4.

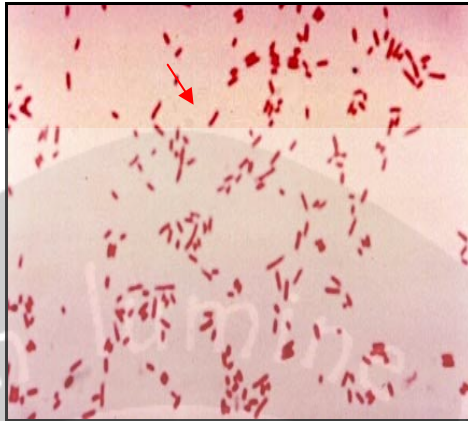


Gambar 4. Mikrobis uji *Staphylococcus aureus* (Sumber: Anonim, 2003).  
Keterangan: tanda panah menunjukkan sel *Staphylococcus aureus*.

b. *Escherichia coli*

*Escherichia coli* adalah penghuni saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas, biasanya tidak patogen. Walaupun *Escherichia coli* merupakan bagian dari mikroflora normal dalam saluran pencernaan, kini telah terbukti bahwa galur-galur tertentu mampu menyebabkan gastroenteritis taraf sedang sampai parah pada manusia dan hewan (Pelczar dan Chan, 2006).

Menurut Budiyanto (2002), *Escherichia coli* merupakan bakteri berbentuk batang pendek dengan ukuran 1,10-1,5  $\mu\text{m}$ , Gram negatif yang bergerak menggunakan flagella, dan memiliki sejumlah *fimbriae* atau *pili* sebagai alat pelekatan pada *host*. Mikroba uji *Escherichia coli* dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Mikrobia uji *Escherichia coli* (Sumber: Anonim, 2003).  
Keterangan : tanda panah menunjukkan sel *Escherichia coli*.

#### K. Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah :

- a. Fase stasioner pada *Penicillium chrysogenum* yang ditumbuhkan pada medium dengan berbagai variasi kadar molase dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  dimulai pada jam inkubasi ke-140.
- b. Perlakuan dengan kadar molase 6% dan  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  2% menghasilkan aktivitas penisilin yang optimal dalam menghambat pertumbuhan mikrobia uji.