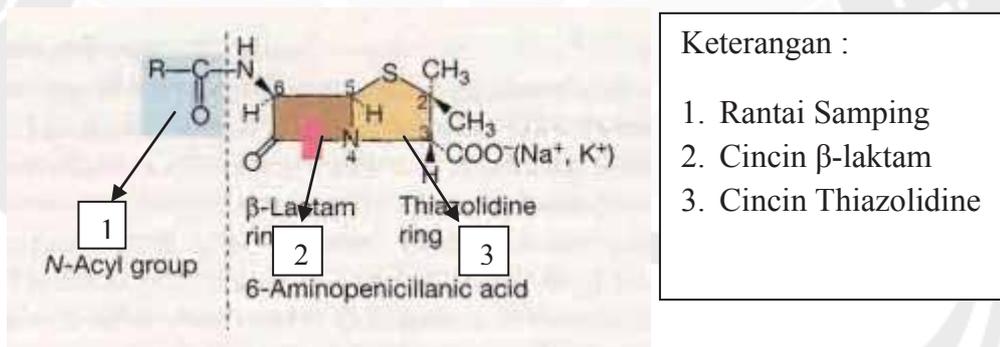


II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penisilin dan Mikroorganisme Penghasil Penisilin

Penisilin merupakan kelompok antibiotik yang ditandai adanya cincin beta-laktam dan diproduksi oleh beberapa jamur (ekariot) yang terdiri dari genus *Penicillium* dan *Aspergillus*, serta bakteri seperti *Streptomyces* sp (Madigan dkk., 2003). Penisilin diproduksi oleh beberapa jamur, seperti jamur *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*, serta beberapa bakteri yang tergolong dalam genus *Streptomyces* (Demain, 1959). Struktur kimia penisilin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur Penisilin (Sumber: Madigan dkk., 2003)

Menurut Madigan dkk. (2003), penisilin dibagi menjadi dua golongan utama, yaitu:

1. Penisilin alami, seperti penisilin G dan penisilin V yang diproduksi melalui fermentasi *Penicillium chrysogenum*, yang efektif melawan *Streptococcus*, *Gonococcus*, dan *Staphylococcus*.
2. Penisilin semisintetik, seperti asam ampisilin, oksasilin, metisilin, dan karbenisilin yang juga diproduksi oleh *Penicillium chrysogenum*. Penisilin ini dihasilkan dengan cara memodifikasi struktur penisilin G secara

signifikan, seperti spektrum aktivitas ditingkatkan sehingga lebih efektif melawan bakteri Gram negatif.

Mekanisme kerja penisilin adalah dengan mengganggu sintesis dinding sel. Pada proses ini, penisilin memiliki struktur yang sama dengan struktur D-alanin-D-alanin terminal pada peptidoglikan, sehingga enzim transpeptidase yang dibentuk menjadi tidak sempurna dan melemahkan kekuatan dinding sel pada bakteri (Volk dan Wheeler, 1993).

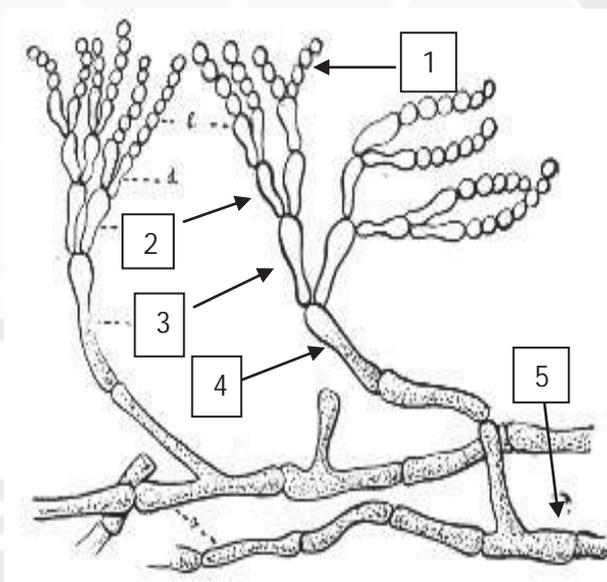
B. Sifat-sifat *Penicillium chrysogenum*

Kapang tergolong ke dalam Eumycetes atau fungi sejati dan dapat dibedakan menjadi empat kelas, yaitu Phycomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes, dan Deuteromycetes. *Penicillium* merupakan kapang yang termasuk dalam Eumycetes atau fungi sejati serta termasuk dalam kelas Deuteromycetes (Fardiaz, 1992). *Penicillium* memiliki ujung konidiofor yang tidak melebar melainkan bercabang-cabang dengan deretan konidium. Kelompok ini meliputi genus yang membentuk konidium dengan struktur yang disebut penisilius (Rahayu dkk., 1989).

Penicillium chrysogenum merupakan jamur yang sangat penting di dalam industri fermentasi untuk menghasilkan penisilin. Klasifikasi dari *Penicillium chrysogenum* adalah sebagai berikut (Kitzmann, 2007):

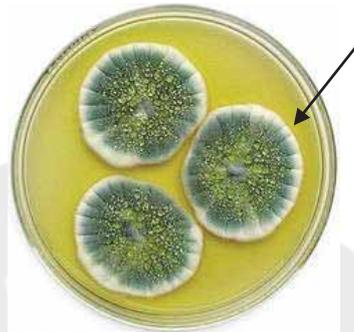
Kerajaan : Fungi
Filum : Ascomycota
Kelas : Eurotiomycetes
Bangsa : Eurotiales
Suku : Trichocomaceae
Marga : *Penicillium*
Spesies : *Penicillium chrysogenum*

Ciri-ciri spesifik *Penicillium* adalah hifa bersekat atau bersepta, miselium bercabang, biasanya tidak berwarna, konidiofora bersekat dan muncul di atas permukaan, berasal dari hifa di bawah permukaan, bercabang atau tidak bercabang, kepala spora terbentuk seperti sapu dengan sterigmata muncul di dalam kelompok, konidium membentuk rantai karena muncul satu per satu dari sterigmata. Konidium pada waktu masih muda berwarna hijau, kemudian berubah menjadi kebiruan atau kecoklatan (Fardiaz, 1992). Morfologi sel dari *Penicillium chrysogenum* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Morfologi *Penicillium chrysogenum* (Sumber: Eyre, 2009)
Keterangan: 1. Konidium, 2. Sterigmata, 3. Metulla, 4. Cabang (Penisilus),
5. Konidiofor

Koloni *Penicillium chrysogenum* tumbuh baik pada medium *Czapek's Dox*, berdiameter sekitar 4 cm dalam waktu 10 hari pada suhu 25°C, memiliki permukaan seperti kapas, dan berwarna hijau kekuningan atau hijau agak biru pucat, jika setelah tua akan berwarna semakin gelap (Gandjar dkk., 1999). Bentuk koloni *Penicillium chrysogenum* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Koloni *Penicillium chrysogenum* (Sumber: Anonim, 2010a)

Keterangan: tanda anak panah menunjukkan koloni *Penicillium chrysogenum* dengan permukaan seperti kapas dan berwarna hijau kekuningan.

C. Pola Pertumbuhan

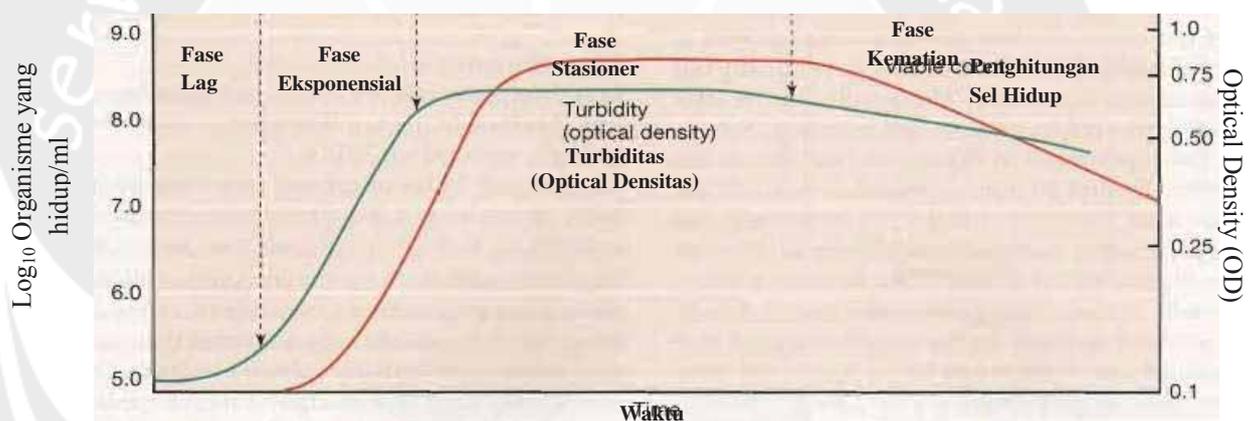
Definisi pertumbuhan pada organisme multiseluler (termasuk jamur) adalah peningkatan jumlah sel per organisme, sehingga ukuran sel juga menjadi lebih besar. Menurut Madigan dkk., (2003), pertumbuhan mikroorganisme di dalam kultur sekali unduh (*batch culture*) dapat digambarkan sebagai kurva pertumbuhan yang menjelaskan daur pertumbuhan suatu mikroorganisme seutuhnya, yang umumnya terbagi menjadi 4 fase, yaitu:

1. Fase Lag, merupakan fase awal yang muncul ketika mikroorganisme menyesuaikan diri dengan lingkungan baru (medium baru). Fase tersebut dapat muncul karena perbedaan nutrisi medium pada kultur awal dan baru atau bisa juga karena umur inokulum yang sudah cukup tua.
2. Fase Eksponensial, merupakan suatu fase ketika sel mulai aktif membelah diri dengan waktu generasi yang panjang. Fase tersebut akan berhenti sesuai dengan ketersediaan nutrisi di dalam medium dan beberapa faktor lain.
3. Fase Stationer, merupakan suatu fase ketika jumlah mikroorganisme di dalam kultur tidak mengalami pertambahan maupun pengurangan, sehingga

membentuk keseimbangan. Fase tersebut muncul karena dua faktor umum, yaitu karena nutrient penting di dalam medium sebagian besar telah habis digunakan dan karena adanya beberapa produk buangan dari metabolisme sel yang terakumulasi di dalam medium dan menghambat pertumbuhan.

4. Fase Kematian, merupakan suatu fase ketika sebagian besar sel di dalam kultur mengalami kematian dan lisis sel karena kehabisan nutrisi.

Kurva pertumbuhan mikroorganisme yang terdiri dari beberapa pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme di Dalam Kultur Sekali Unduh (Sumber: Madigan dkk., 2003).

Keterangan: Garis merah menandakan perhitungan sel hidup sedangkan garis hijau menandakan turbiditas (*Optical Density*)

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 mikrobia yang mati bertambah banyak karena nutrisi 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 Aziza dan Amrane (2012), penggunaan substrat hasil campuran terutama gula, dapat menghasilkan fase pertumbuhan yang dinamakan pertumbuhan *diauxic*. Pertumbuhan *diauxic* terjadi setelah sumber karbon yang sederhana habis dan terjadi penggunaan sumber karbon yang lebih kompleks oleh mikroorganisme. Menurut Jutono dkk., (1973), pengukuran pertumbuhan mikroorganisme di dalam suatu suspensi atau bahan dapat dilakukan melalui beberapa cara, antara lain dengan perhitungan massa sel secara langsung dan secara tidak langsung. Perhitungan jumlah mikroorganisme secara keseluruhan baik yang mati, maupun yang hidup. Menurut Jutono dkk., (1973), perhitungan jumlah mikroorganisme secara langsung dapat diukur dengan cara:

1. Menggunakan *counting chamber*
2. Pengecatan dan pengamatan mikroskopik
3. Menggunakan filter membran

Perhitungan jumlah mikroorganisme secara tidak langsung dipakai untuk menentukan jumlah mikroorganisme keseluruhan baik yang hidup, maupun yang mati, atau hanya untuk menentukan jumlah mikroorganisme yang hidup saja, tergantung pada cara yang digunakan (Jutono dkk., 1973). Caranya adalah menggunakan *centrifuge*, turbidimeter (berdasarkan kekeruhan), berdasarkan analisis kimia, berat kering, cara pengenceran, MPN (*Most Probable Number*), dan berdasarkan jumlah koloni (*Plate Count*) (Jutono dkk., 1973).

D. Produksi Penisilin oleh *Penicillium chrysogenum*

Di dalam proses produksi penisilin, dibutuhkan suatu proses yang aerobik dan aerasi yang efisien. Penisilin merupakan suatu metabolit sekunder yang khas. Selama tahap pertumbuhan, sangat sedikit penisilin yang diproduksi, tetapi ketika sumber karbon telah habis, tahap produksi penisilin baru dimulai. Produksi penisilin oleh jamur *Penicillium chrysogenum* terjadi selama fase stasioner, sehingga dikenal sebagai metabolit sekunder. Oleh karena itu, di dalam proses produksi metabolit sekunder ini, dikenal juga istilah fase pertumbuhan (*tropofase*) dan fase pembentukan produk (*idiofase*). Kebanyakan metabolit diproduksi setelah pertumbuhan masuk ke dalam fase stasioner (Madigan dkk., 2003).

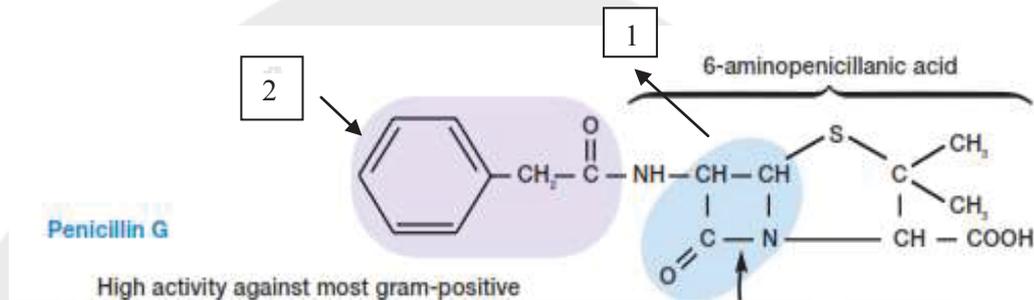
Menurut Crueger dan Crueger (1990), produksi penisilin menggunakan *Penicillium chrysogenum* berlangsung dari 0-140 jam (sekitar 5-6 hari). Fase pertumbuhan penisilin mempunyai jangka waktu sekitar 40 jam. Selama waktu tersebut, massa sel dibentuk. Setelah fase pertumbuhan (*logaritma*)

berlangsung, tahap produksi penisilin yang sebenarnya dimulai. Menurut Madigan dkk. (2003), selama fase pertumbuhan hasil produksi penisilin sangat sedikit, ketika sumber glukosa hampir habis fase produksi penisilin dimulai. Dengan pemberian berbagai macam komponen pada kultur medium dapat meningkatkan hasil penisilin. Aritonang (2006) di dalam penelitiannya yang menggunakan air lindi sebagai medium produksi penisilin menggunakan *Penicillium chrysogenum*, berpendapat bahwa perpanjangan masa inkubasi hingga 10 hari perlu dilakukan sebagai penelitian lanjutan agar mencapai fase stasioner yang berpengaruh terhadap jumlah produksi penisilin.

E. Jalur Pembentukan Penisilin

Menurut Crueger dan Crueger (1990), cincin β -Laktam-Thiazolidine pada penisilin dibentuk dari senyawa *L-cysteine* dan *L-Valine*. Biosintesis penisilin diawali dengan proses pembentukan peptida dari *L- α -Aminoadipic acid* (*L- α -AAA*) dan *L-cysteine* atau pemecahan sebuah senyawa dari *cystathionine*. Setelah itu, berlangsung reaksi epimerisasi yaitu *L-Valine* bergabung dengan *L- α -AAA* yang menghasilkan suatu bentuk tripeptida yaitu δ -(*L- α -Aminoadipyl*)-*Cysteinyl-D-Valine* atau *LLD-Tipeptide*. Isopenisilin N merupakan produk pertama kali hasil proses kristalisasi dari tripeptida yang dapat diisolasi berupa Penisilin N, tetapi isopenisilin dapat juga dijadikan perantara pembentukan penisilin melalui reaksi biokimia. ¹⁴*Benzylpenicilin* (Penisilin G) dihasilkan dari reaksi antara isopenisilin N dan *Phenylacetic acid* dengan aktivitas *Penicillin-transatylase*, hasil samping berupa δ -*Aminopenicillanic acid* dan *L- α -Aminoadipic acid*. Senyawa 6-APA (6-

Aminopenicillanic acid) bukan merupakan senyawa perantara dalam biosintesis penisilin melainkan hasil samping dari perubahan bentuk prekursor (Crueger dan Crueger, 1990).

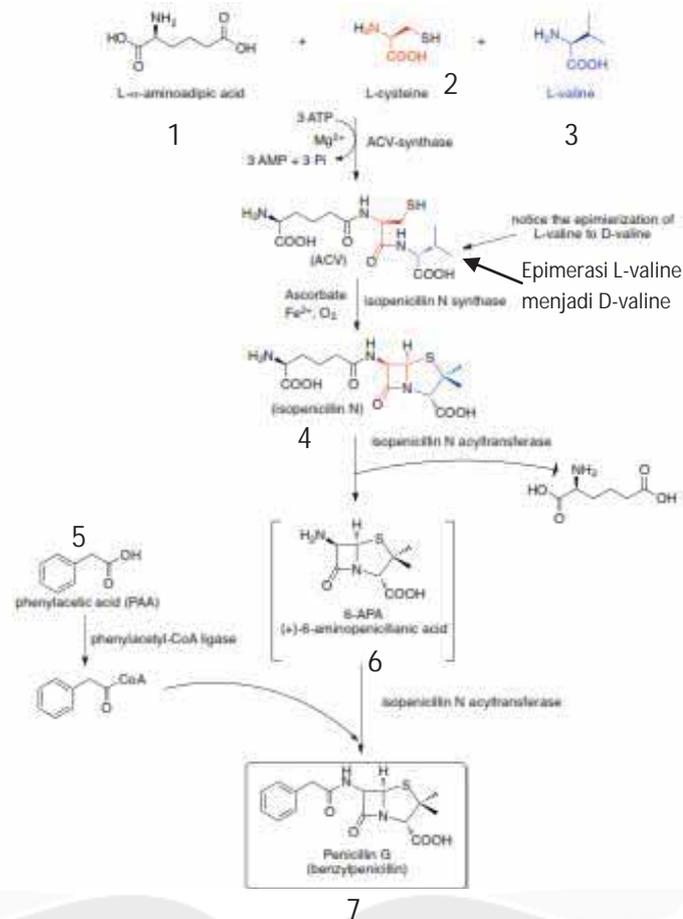


Gambar 5. Struktur Penisilin G (Sumber: Prescott dkk., 2002)

Keterangan : 1. Asam 6-aminopenisilanik, 2. Penisilin G

Biosintesis penisilin memiliki beberapa mekanisme regulasi. Asam amino lisin disintesis dari sebuah jalur yang melibatkan *L- α -Aminoadipic acid*, tetapi penisilin dan lisin dipisahkan jalur biosintesis yang terpisah. Lisin merupakan inhibitor bagi biosintesis penisilin karena lisin akan menghambat (*feedback inhibitor*) bagi *homocitrate synthase*, yang merupakan enzim dalam sintesis *L- α -Aminoadipic acid*. Jika *L- α -Aminoadipic acid* berkurang, maka penisilin tidak dapat disintesis (Crueger dan Crueger, 1990).

Biosintesis penisilin juga dipengaruhi oleh konsentrasi fosfat, proses katabolit represi oleh glukosa, dan juga konsentrasi ion ammonium pada proses regulasi. Pada produksi penisilin terjadi metabolisme gula laktosa secara lambat karena terdapat tekanan glukosa (Crueger dan Crueger, 1990).



Gambar 6. Biosintesis Penisilin (Frantz,D.E.,2011)

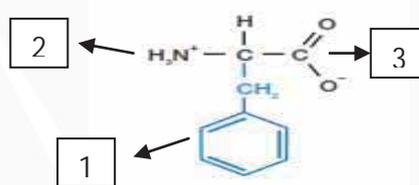
Keterangan: 1. L-aminoadipic acid, 2. L-sistein, 3. L-valin, 4. Isopenisilin N, 5.Asam Fenilasetat, 6. 6-asam aminoadipik, 7. Penisilin G (Bensil Penisilin)

F. Fenilalanin untuk Optimalisasi Penisilin

Struktur dasar dari semua penisilin adalah 6-aminopenicilani acid (6-APA), yang terdiri dari cincin thiazolidine dengan kondensasi cincin β -laktam (Gambar 1). Jika fermentasi penisilin dilakukan tanpa penambahan rantai samping prekursor, maka akan dihasilkan penisilin alami. Fermentasi dapat diatur dengan menambahkan prekursor, sehingga dapat menghasilkan penisilin seperti penisilin G (Madigan dkk., 2003)

Menurut Casida (1968), *corn steep liquor* ditemukan mengandung fenilalanin dan akan dipecah menjadi feniletilamin dan asam fenilasetat.

Fenilalanin termasuk dalam golongan asam amino, asam amino mengandung gugus karboksil dan α -karbon. Fenilalanin diklasifikasikan sebagai asam amino non-polar, dikarenakan rantai hidrofobik dari rantai samping benzyl (Prescott, 2002). Fenilalanine dapat dihasilkan secara konvensional pada medium yang mengandung glukosa atau sukrosa sebagai sumber karbon. Fenilalanin merupakan suplemen nutrisi dan prekursor untuk pembuatan aspartame (Khamduang, dkk., 2009).



Phenylalanine (Phe)

Gambar 7. Sturuktur Fenilalanin (Sumber: Prescott, 2002)
Keterangan: 1. Rantai Samping, 2. Grup Amino, 3. Grup Karboksil, 4. α -karbon

G. Faktor yang Memengaruhi Produksi Penisilin

Komponen penyusun medium untuk produksi penisilin harus lengkap, seperti mengandung *corn steep liquor*, laktosa, prekursor, dan garam mineral, sesuai dengan kebutuhan mikroorganisme untuk membentuk biomassa sel dan produk berupa metabolit. Gula dapat dimanfaatkan oleh jamur sebagai sumber karbon untuk memproduksi penisilin (Demain, 1959). Menurut Lowe (2001), produksi penisilin yang maksimal diperoleh pada kadar gula sekitar 6%, sedangkan menurut Makfoeld (1993), produksi penisilin maksimal diperoleh pada kadar gula sekitar 4-5%.

Suhu, pH, aerasi, dan agitasi juga memengaruhi proses produksi penisilin. Waluyo (2004) menyatakan bahwa kebanyakan kapang bersifat

mesofilik, yaitu mampu tumbuh baik pada suhu ± 27 °C. Suhu optimum untuk produksi penisilin oleh *Penicillium chrysogenum* dan kapang lainnya di dalam memproduksi penisilin sekitar 24-30 °C. Menurut Owen dan Johnson (1955), suhu 30 °C sangat cocok untuk fase produksi miselium, sedangkan suhu sekitar 20 °C sangat cocok untuk fase produksi penisilin. Dari hasil penelitian Owen dan Johnson (1955), hasil penisilin dapat meningkat hingga 50 % dengan memulai fermentasi pada suhu 30 °C dan setelah itu diubah menjadi 20 °C, setelah 42 jam masa inkubasi, daripada yang ditumbuhkan pada suhu 25 °C selama masa inkubasi.

Kebanyakan kapang dapat tumbuh dengan baik pada pH 2,0-8,5, tetapi biasanya pertumbuhan akan baik bila pada kondisi asam atau pH rendah (Waluyo, 2004). Menurut Hillenga dkk. (1995), derajat keasaman (pH) yang optimum untuk memproduksi penisilin sekitar 5-7,5, sedangkan menurut Crueger dan Crueger (1990) baik dilakukan pada pH 6,5.

H. Aktivitas Penisilin dan Cara Pengukurannya

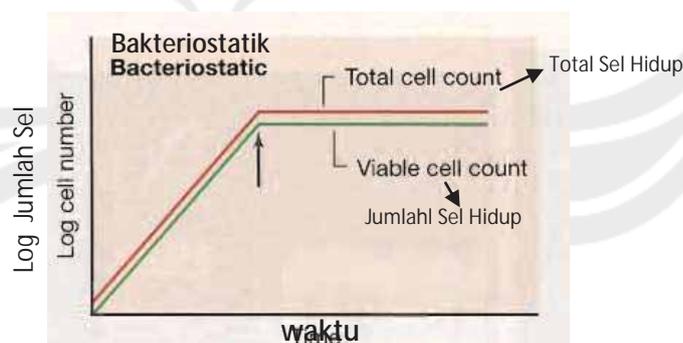
Menurut Volk dan Wheeler (1993), efek bakterisidal dari penisilin dihasilkan dengan cara mengganggu sintesis peptidoglikan dinding sel, sehingga membran sel mekah dan menghamburkan isi sel. Penisilin menghambat pembentukan dinding sel dengan cara mencegah penggabungan asam asetilmuramat, yang dibentuk 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 dengan aktif (Pelczar dan Chan, 1988). Penisilin ini aktif digunakan pada

banyak spesies bakteri, seperti bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, dikenal dengan sebutan penisilin yang memiliki spektrum luas atau *broad spectrum* (Atlas, 1988).

Menurut Madigan dkk. (2003), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibakteri memiliki tiga macam efek terhadap pertumbuhan mikrobia, yaitu:

1. Bakteriostatik

Efek ini menghambat pertumbuhan sel, tetapi tidak mematikan, serta sering menghambat sintesis protein dan biasanya mengikat ribosom. Ikatan yang terjadi tidak kuat dan ketika konsentrasi dari agen bakteriostatik (antimikrobia) diturunkan, agen akan lepas dari ribosom dan pertumbuhan akan dilanjutkan kembali). Efek bakteriostatik dapat dilihat pada Gambar 7.

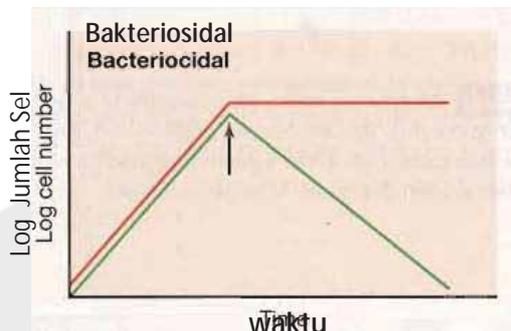


Gambar 8. Tipe Bakteriostatik (Sumber: Madigan dkk., 2003)

Keterangan: Waktu diindikasikan sebagai anak panah, konsentrasi penghambat tumbuh ditambahkan pada saat fase eksponensial).

2. Bakteriosidal

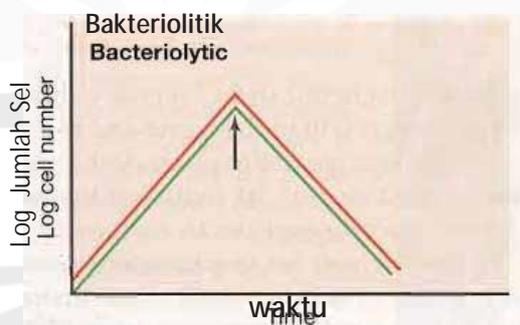
Efek tersebut akan membunuh sel, tetapi tidak akan terjadi lisis sel, serta biasanya terikat kuat pada target seluler dan tidak dapat dihilangkan dengan pengenceran. Tipe bakteriosidal dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 9. Tipe Bakteriosidal (Sumber: Madigan dkk., 2003)
Keterangan: Waktu diindikasikan sebagai anak panah, konsentrasi penghambat tumbuh ditambahkan pada saat fase eksponensial)

3. Bakteriolitik

Efek tersebut membunuh sel dengan diikuti terjadinya lisis sel. Jumlah sel akan menurun dan menghambat terjadinya sintesis dinding sel. Tipe bakteriolitik dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 10. Tipe Bakteriolitik (Sumber: Madigan dkk., 2003)
Keterangan: Waktu diindikasikan sebagai anak panah, konsentrasi penghambat tumbuh ditambahkan pada saat fase eksponensial)

I. Mikroorganisme Uji

Mikroorganisme uji digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas antibiotik penisilin yang dihasilkan oleh *Penicillium chrysogenum*. Mikroorganisme dapat digunakan sebagai mikroorganisme uji jika bersifat patogen bagi manusia, sehingga diperlukan suatu usaha untuk menghambat pertumbuhannya. Mikrobia yang digunakan merupakan bakteri Gram positif

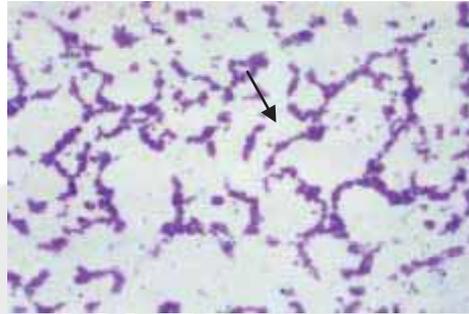
dan bakteri Gram negatif untuk menguji kemampuan antibiotik penisilin yang dihasilkan oleh *Penicillium chrysogenum*, seperti *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Saputra, 2012).

1. *Staphylococcus aureus*

Menurut Seubert (2008), klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

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

Staphylococcus aureus berbentuk bulat dengan diameter 0,8-1 μm , kadang tersusun dalam kelompok tidak teratur dan kadang juga berbentuk rantai pendek, non-motil, bersifat aerobik dan kadang anaerobik fakultatif, Gram positif, dan katalase positif (Breed dkk., 1957). Koloni *Staphylococcus aureus* pada medium agar berbentuk bulat, halus, berwarna jingga keputihan, megkilap, dan *butyrous* (Breed dkk., 1957). *Staphylococcus aureus* mampu memproduksi asam dari glukosa, laktosa, sukrosa, manitol, dan gliserol. Bakteri tersebut tidak mampu menghidrolisis pati, serta mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan mempeptonisasi susu (Breed dkk., 1957). Morfologi mikroskopis *Staphylococcus aureus* dengan pengecatan Gram dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 11. Morfologi Sel *Staphylococcus aureus* dengan pengecatan Gram positif dengan bentuk bulat dengan perbesaran 10x10 (Sumber: Anonim, 2010b)

Keterangan: tanda panah menunjukkan sel *Staphylococcus aureus*.

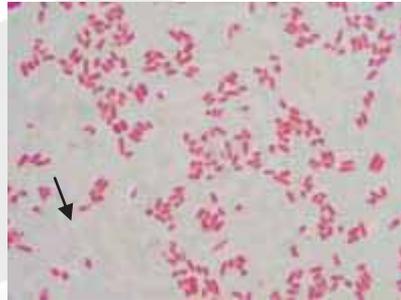
2. *Escherichia coli*

Menurut Moder (2008), klasifikasi dari *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Domain: Bacteria
 Kingdom: Bacteria
 Phylum: Proteobacteria
 Class: Gamma Proteobacteria
 Order: Enterobacteriales
 Family: Enterobacteriaceae
 Genus: *Escherichia*
 Species: *Escherichia coli*

Escherichia coli berbentuk batang dengan ukuran 0,5-1,0 μm , kadang berbentuk agak bulat / *coccus*, membentuk rantai pendek atau berpasang-pasangan, bersifat Gram negatif, ada yang bersifat motil (memiliki flagelum) dan ada yang bersifat non-motil, dan tidak membentuk spora (Breed dkk., 1957). Koloni *Escherichia coli* pada medium agar berwarna putih dan kadang kekuningan, lembab, dan mengkilap. *Escherichia coli* mampu memproduksi asam dan gas dari glukosa, fruktosa, galaktosa, laktosa, maltosa, arabinosa, xilosa, rhamnosa, dan manitol (Breed dkk., 1957). Bakteri tersebut mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit, dan

mampu membentuk indol (Breed dkk., 1957). Morfologi mikroskopis *Escherichia coli* dengan pengecatan Gram dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 12. Morfologi sel *Escherichia coli* dengan pengecatan Gram Negatif dengan bentuk agak bulat / coccus dengan perbesaran 10x10 (Sumber: Anonim, 2008)

Keterangan: Tanda panah menunjukkan sel *Escherichia coli*.

J. Air Lindi

Air lindi merupakan cairan hasil proses dekomposisi anaerobik bahan organik sampah dan juga merupakan hasil kontak bahan cair dengan sampah atau gas yang dihasilkan oleh sampah (Orth, 1989). Menurut Laksmi dan Rahayu (1995), air lindi yang baru terbentuk umumnya berwarna hitam kecoklatan, pekat, berbau dan beracun bagi manusia karena disebabkan oleh berbagai hal, seperti:

1. Mengandung senyawa amoniak (NH_3), Sulfurdioksida, karbondioksida, dan metana sebagai hasil utama proses dekomposisi anaerobik.
2. Telah terkontaminasi dengan hampir semua bahan yang terlarut dan tersuspensi di dalam sampah.

Proses penguraian bahan organik menjadi komponen yang lebih sederhana oleh mikroorganisme aerobik dan anaerobik pada lokasi pembuangan sampah dapat menyebabkan terbentuknya gas dan air lindi (Ali, 2011). Menurut Hadiwiyoto (1983), proses pembentukan air lindi dari

tumpukan sampah akan berjalan optimal bila didukung oleh keadaan-keadaan sebagai berikut:

1. Kelembaban tumpukan sekitar 48-55 %.
2. Keseimbangan nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroorganisme, terutama unsur karbon (C) dan nitrogen (N) sebagai unsur yang paling dibutuhkan.
3. Suhu lingkungan sesuai dengan suhu pertumbuhan optimum mikroorganisme, yaitu sekitar 39 °C.
4. Kedap udara, yaitu tanpa adanya kontak dengan udara luar.
5. Derajat keasaman (pH) cenderung asam. Keasaman yang terlalu rendah (pH tinggi) menyebabkan kenaikan konsumsi oksigen.
6. Tercukupinya jumlah starter mikroorganisme di dalam limbah lumpur aktif (*sludge*) di awal perombakan.

Komposisi air lindi yang meliputi pengujian fisika dan limbah cair TPA Sampah Piyungan tahun 2003 yang diuji oleh Balai Teknik Kesehatan Lingkungan (BTKL) dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan tabel tersebut, dapat diketahui bahwa sumber C yang digunakan untuk pertumbuhan *Penicillium chrysogenum* dapat diperoleh dari kandungan zat padat terlarut dan zat padat tersuspensi. Zat-zat lain yang terkandung di dalam air lindi digunakan sebagai sumber nitrogen dan mineral bagi pertumbuhan *Penicillium chrysogenum* (Anonim, 2003).

Tabel 1. Komposisi Air Lindi Berdasarkan Hasil Pengujian Fisika dan Kimia Limbah Cair TPA Sampah Piyungan Kabupaten Bantul Tahun 2003

No.	Parameter	Satuan	Kadar maksimum yang diperbolehkan	Hasil analisa (inlet)
A.	FISIKA			
1.	Temperatur	°C	30	30
2.	Zat padat terlarut	Mg/l	2.000	9.980
3.	Zat padat tersuspensi	Unit	200	2079
B.	KIMIA			
1.	pH	-	6,0 – 9,0	8
2.	Besi (Fe)	mg/l	5	43,12
3.	Mangan (Mn)	mg/l	2	0,07
4.	Seng (Zn)	mg/l	5	0,5174
5.	Krom heksavalen (Cr)	mg/l	0,1	<0,005
6.	Timbal (Pb)	mg/l	0,1	<0,02
7.	Kobalt (Co)	mg/l	0,4	0,0978
8.	Fluorida (F)	mg/l	2	<0.03
9.	Amoniak bebas (NH ₂ -N)	mg/l	1	37,132
10.	Nitrat (NO ₃ -N)	mg/l	20	40,55
11.	Nitrit (NO ₂ -N)	mg/l	1	0,0103
12.	BOD	mg/l	50	5.320
13.	COD	mg/l	100	10.249
14.	Senyawa aktif baru	mg/l	5	1,4436
15.	Phenol	mg/l	0,5	5,192
16.	Minyak mineral	mg/l	10	6,8

(Sumber: Anonim, 2003)

K. Molase

Molase atau tetes tebu merupakan sirup gula yang tidak mengkristal dari hasil proses kristalisasi pada pabrik gula. Molase disebut juga sebagai *the mother liquor*. Molase merupakan hasil samping dari industri gula yang berupa cairan yang kental dan biasanya pabrik gula menghasilkan 30-40 % molase dari total produksi gula. Hasil akhir molase berupa cairan kental yang berwarna coklat kehitaman yang mengandung 80-85 % padatan terlarut (Kulkarni, 2009).

Pabrik gula biasanya memproduksi 3,5-4 % produk akhir molase terdapat berbagai macam komponen (Kulkarni, 2009). Komposisi molase dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Molase

Komponen	Rentang (% Berat)
Sukrosa	30-35
Gula Reduksi	10-15
Abu	10-12
Air	12-20
Total % berat kering gula	55-60
Nitrogen	0,15 – 0,25
CaO	1,0 – 1,5
Total bahan organin non-gula	15-20
Bahan yang terfermentasi	1,5 – 2,5
SO ₄	1,2 – 3,5
P ₂ Os	0,25 – 0,3

(Sumber: Kulkarni, 2009)

L. Hipotesis

Berdasarkan rangkuman teori di atas, maka penelitian ini mengajukan hipotesis berikut:

1. Penambahan fenilalanin 0,4 gram dapat meningkatkan hasil penisilin yang ditumbuhkan pada substrat air lindi.
2. Aktivitas penisilin yang dihasilkan mampu menghambat bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif.