

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Penisilin dan Mikroorganisme Penghasil Penisilin

Penisilin merupakan kelompok antibiotik yang ditandai oleh adanya cincin β -laktam dan diproduksi oleh beberapa jamur (eukariot) yang terdiri dari genus *Penicillium* dan *Aspergillus*, serta oleh beberapa prokariot tertentu (Madigan dkk., 2000). Sifat unik pada masing-masing penisilin ditentukan oleh adanya rantai samping yang berbeda-beda. Secara kimiawi penisilin tergolong dalam antibiotik β -laktam (Pelczar dan Chan, 1988).

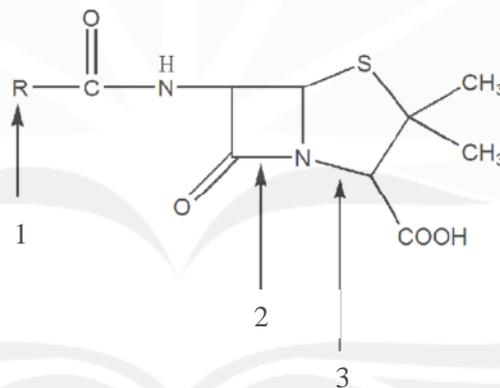
Penisilin diproduksi oleh beberapa jenis jamur, seperti jamur *Penicillium notatum*, *Penicillium chrysogenum*, serta beberapa jenis jamur yang tergolong di dalam genus *Streptomyces*. *Penicillium chrysogenum* merupakan salah satu mikroorganisme yang penting di bidang industri, khususnya untuk menghasilkan penisilin yang merupakan salah satu antibiotik komersial (Pyatkin, 1967; Brakhage, 1998).

Omura (1995) di dalam Demain (1996) menyatakan bahwa kira-kira 10.000 metabolit sekunder telah ditemukan struktur kimianya yang tersusun oleh cincin β -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.

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

1. Menghambat atau membunuh patogen tanpa merusak inang (*host*).

2. Bersifat bakteriosidal 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 digunakan dalam jangka waktu yang lama.
6. Tetap aktif di dalam plasma, cairan badan, atau eksudat.
7. Larut di dalam air dan bersifat stabil.
8. *Bacteriosidal level*, di dalam tubuh cepat dicapai dan dapat bertahan untuk waktu yang lama.



Gambar 1. Struktur Kimia Penisilin (Sumber: Anonim, 2009)

Keterangan: 1. Gugus rantai samping; 2. Cincin β -laktam; 3. Cincin thiazolidin

Menurut Todar (2000), penisilin dapat dibagi menjadi tiga golongan utama, yaitu:

1. Penisilin alami, seperti Penisilin G (*Benzylpenicillin*) dan Penisilin V (*Phenoxymethylpenicillin*) yang diproduksi melalui fermentasi *Penicillium chrysogenum*, yang efektif melawan *Streptococcus*, *Gonococcus*, dan

Staphylococcus. Penisilin G dan Penisilin V termasuk ke dalam spektrum sempit (*narrow spectrum*) karena tidak efektif melawan bakteri Gram-negatif.

2. Penisilin biosintetik, diproduksi dengan cara melakukan rekayasa pada penisilin untuk menghasilkan penisilin yang mampu melawan aktivitas bakteri Gram-negatif.
3. Penisilin semisintetik, banyak dari campuran ini telah dikembangkan untuk mempunyai keuntungan atau manfaat yang berbeda dari Penisilin G, seperti spektrum aktivitas ditingkatkan (efektivitas melawan bakteri Gram-negatif).

Taskin dkk. (2010) menyatakan bahwa penisilin yang dihasilkan oleh *Penicillium chrysogenum* merupakan penisilin G yang labil terhadap kondisi asam. Menurut Volk dan Wheeler (1993), mekanisme kerja penisilin adalah dengan mengganggu sintesis dinding sel, khususnya ketika proses transpeptidasi pada sintesis peptidoglikan dinding sel. Pada proses ini, penisilin memiliki struktur yang sama dengan struktur *D*-alanil-*D*-alanin terminal pada peptidoglikan, sehingga enzim transpeptidase bereaksi dengan penisilin. Hal ini membuat struktur peptidoglikan yang dibentuk menjadi tidak sempurna dan melemahkan kekuatan dinding sel pada bakteri.

B. Sifat-Sifat *Penicillium chrysogenum*

Jamur tergolong ke dalam Eumycetes atau fungi sejati dan terdiri atas empat kelas, yaitu Phycomyces, Ascomycetes, Basidiomycetes, dan Deuteromycetes (*Fungi Imperfecti*). *Penicillium* dan *Aspergillus* merupakan anggota 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 penisilus (Rahayu dkk., 1989).

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

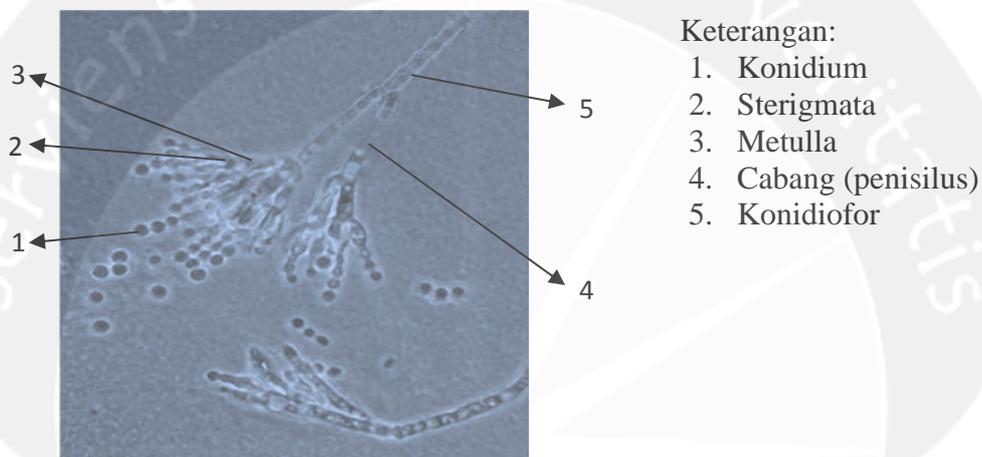
Kerajaan	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Kelas	: Eurotiomycetes
Bangsa	: Eurotiales
Suku	: Trichocomaceae
Marga	: <i>Penicillium</i>
Spesies	: <i>Penicillium chrysogenum</i> Thom

(Sumber: Anonim, 2011 a)

Ciri-ciri spesifik *Penicillium* adalah hifa bersekat atau berseptata, miselium bercabang, biasanya tidak berwarna, konidiofora bersekat dan muncul di atas permukaan, berasal dari hifa di bawah permukaan, bercabang atau tidak bercabang, kepala yang membawa spora berbentuk 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.

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 telah tua akan berwarna semakin gelap (Gandjar dkk., 1999).

Menurut Pitt dan Hocking (1979), koloni *Penicillium chrysogenum* tumbuh cepat di atas medium standar pada suhu 25 °C, sedangkan pada medium *Czapek's Yeast Agar* (CYA) menghasilkan *blue-green* konidium. *Penicillium chrysogenum* bersifat mesofilik, tumbuh pada suhu yang minimum pada suhu 4 °C, optimum pada suhu 23 °C, dan maksimum pada suhu 37 °C. Derajat keasaman (pH) optimum untuk pertumbuhan *Penicillium chrysogenum* antara 4-6.



Gambar 2. Morfologi *Penicillium chrysogenum* (Sumber: Volk, 2003)

C. Pola Pertumbuhan Mikroorganisme

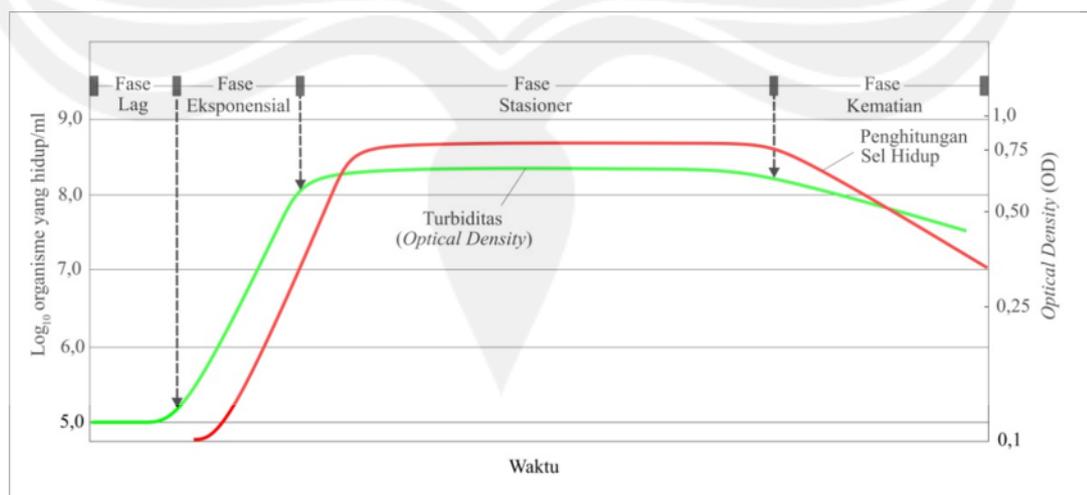
Definisi pertumbuhan pada organisme multiseluler (termasuk jamur) adalah peningkatan jumlah sel per organisme, sehingga ukuran sel juga menjadi lebih besar. Menurut Madigan dan Martinko (2006), pertumbuhan mikroorganisme di dalam kultur sekali unduh (*batch culture*) dapat digambarkan sebagai kurva pertumbuhan yang menjelaskan siklus 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 stasioner, merupakan suatu fase ketika jumlah sel 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 fase pertumbuhan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme di Dalam Kultur Sekali Unduh (Sumber: Madigan dan Martinko, 2006)

Menurut Jutono dkk. (1980), 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 langsung dipakai untuk menentukan jumlah mikroorganisme secara keseluruhan baik yang mati, maupun yang hidup. Perhitungan jumlah mikroorganisme secara langsung dapat diukur dengan cara:

1. Menggunakan *counting chamber*
2. Pencacatan 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. 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., 1980).

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 produk diproduksi setelah pertumbuhan masuk ke dalam fase stasioner (Madigan dkk., 2000).

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 baru dimulai. Pemberian nutrisi, seperti glukosa dan nitrogen di dalam berbagai komponen medium kultur dapat memperlama tahap produksi penisilin, dari 120-180 jam. 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. Anonim (2004) menyatakan bahwa pada proses produksi penisilin, pertumbuhan sel dan produksi penisilin ditentukan dengan cara mengukur kadar sel, kadar glukosa di dalam substrat, dan potensi penisilin setiap 6 jam.

E. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Produksi Penisilin

Komponen penyusun medium untuk produksi penisilin harus lengkap, sesuai dengan kebutuhan mikroorganisme untuk membentuk biomassa sel dan produk berupa metabolit. Gula dapat dimanfaatkan oleh jamur sebagai sumber

karbon untuk memproduksi penisilin. Menurut Suharni dkk. (2001), produksi penisilin yang maksimal diperoleh pada kadar gula sekitar 6%, sedangkan menurut Makfoeld (1993), produksi penisilin yang 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 kamar. Suhu optimum untuk produksi penisilin oleh *Penicillium chrysogenum* dan kapang lainnya di dalam memproduksi penisilin sekitar 24-30 °C. Menurut Owen dan Johnson (1955), penurunan suhu inkubasi dari 30 °C menjadi 25 °C setelah 35-40 jam masa inkubasi dapat meningkatkan produksi penisilin. Suhu 30 °C sangat cocok untuk fase produksi miselium, sedangkan suhu sekitar 20 °C sangat cocok untuk fase produksi penisilin. Namun, penelitian tersebut menggunakan suhu 30 °C selama proses produksi.

Kebanyakan kapang dapat tumbuh baik pada pH 2,0-8,5, tetapi biasanya pertumbuhan akan baik bila pada kondisi asam atau pH rendah (Waluyo, 2004). Menurut Suharni dkk. (2001), derajat keasaman (pH) yang optimum untuk memproduksi penisilin sekitar 5-7,5, sedangkan menurut Crueger dan Crueger (1990) baik dilakukan pada pH 6,5.

F. Aktivitas Penisilin dan Pengukurannya

Menurut Volk dan Wheeler (1993), efek bakterisidal dari penisilin dihasilkan dengan cara mengganggu sintesis peptidoglikan dinding sel, sehingga

membran sel merekah 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 yang 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. (2000), pengukuran aktivitas antimikroorganisme dapat diukur dengan cara mendeterminasi jumlah terkecil senyawa untuk menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang diuji, disebut dengan *minimum inhibitory cocentration* (MIC). Nilai MIC ditentukan dari kadar minimum yang bisa menghambat pertumbuhan mikroorganisme, tetapi MIC tidak konstan karena tergantung dengan sifat mikroorganisme uji, ukuran inokulum, komposisi medium kultur, waktu inkubasi, dan kondisi inkubasi, seperti suhu, pH, dan aerasi. Metode lain yang dapat digunakan untuk mengukur aktivitas antimikroorganisme adalah dengan metode difusi agar, yaitu dengan pembentukan zona hambat. Sejumlah senyawa tertentu ditambahkan dengan menggunakan kertas saring (*paper disc*), kemudian ditempatkan pada permukaan agar yang telah diinokulasikan dengan mikroorganisme uji. Kelebihan dari metode difusi agar ini adalah aktivitas penisilin langsung dapat dilihat dengan adanya zona hambat yang terbentuk, sehingga metode ini sering digunakan untuk menguji aktivitas penisilin terhadap organisme patogen.

Menurut Madigan dkk. (2000), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antibakteri memiliki tiga macam efek terhadap pertumbuhan mikrobia, yaitu:

1. Bakteriostatik

Efek tersebut menghambat pertumbuhan sel, tetapi tidak mematikan, serta sering menghambat sintesis protein dan biasanya mengikat ribosom (ikatan yang terjadi tidak kuat dan ketika konsentrasi diturunkan, sel akan lepas dari ribosom dan pertumbuhan akan dilanjutkan kembali).

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.

3. Bakteriolitik

Efek tersebut membunuh sel dengan diikuti terjadinya lisis sel. Jumlah sel akan menurun dan menghambat terjadinya sintesis dinding sel.

G. 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 uji yang digunakan dapat dari kelompok bakteri Gram-positif, maupun Gram-

negatif untuk menguji kemampuan antibiotik penisilin yang diproduksi oleh *Penicillium chrysogenum*, misalnya *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

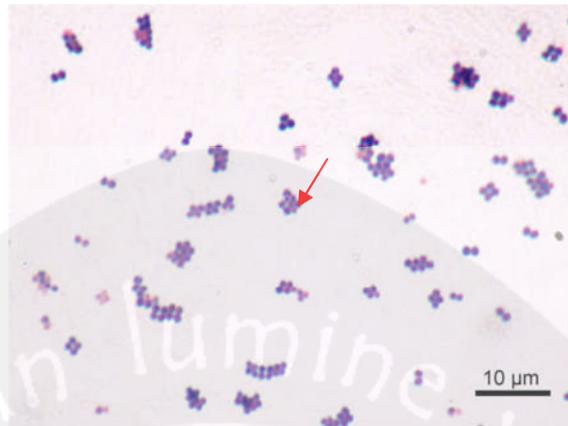
1. *Staphylococcus aureus*

Menurut Jawetz (1996), *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan pada kulit dan hidung manusia, yang kadang dapat menyebabkan infeksi. Klasifikasi dari *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Firmicutes
Kelas	: Bacilli
Bangsa	: Bacillales
Suku	: Staphylococcaceae
Marga	: <i>Staphylococcus</i>
Spesies	: <i>Staphylococcus aureus</i>

(Sumber: Anonim, 2011 b)

Menurut Breed dkk. (2001), *Staphylococcus aureus* berbentuk bulat dengan diameter sekitar 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. Koloni *Staphylococcus aureus* pada medium agar berbentuk bulat, halus, berwarna jingga keputihan, mengkilap, dan *butyrous*. *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. Morfologi mikroskopis *Staphylococcus aureus* dengan pengecatan Gram dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Morfologi Sel *Staphylococcus aureus* dengan pengecatan Gram (Sumber: Anonim, 2010 c)

Keterangan: tanda panah menunjukkan sel *Staphylococcus aureus*.

2. *Escherichia coli*

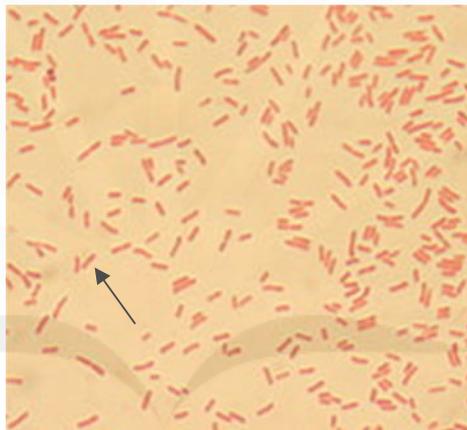
Escherichia coli merupakan bakteri penghuni saluran pencernaan manusia dan hewan berdarah panas lainnya, biasanya tidak berifat patogen. Walaupun *Escherichia coli* merupakan bagian dari mikroflora normal di dalam saluran pencernaan, galur-galur tertentu dari bakteri tersebut kini telah terbukti mampu menyebabkan gastroenteritis taraf sedang hingga parah pada manusia dan hewan (Pelczar dan Chan, 1986). Klasifikasi dari bakteri *Escherichia coli* adalah sebagai berikut:

Kerajaan	: Bacteria
Filum	: Proteobacteria
Kelas	: Gammaproteobacteria
Bangsa	: Enterobacteriales
Suku	: Enterobacteriaceae
Marga	: <i>Escherichia</i>
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

(Sumber: Anonim, 2011 c)

Breed dkk. (2001), *Escherichia coli* merupakan bakteri 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. Koloni *Escherichia coli* pada medium agar berwarna putih dan kadang kekuningan, lembab, dan mengkilap. *Escherichia coli* mampu membentuk asam dan gas dari glukosa, fruktosa, galaktosa, laktosa, maltosa, arabinosa, xilosa, rhamnosa, dan manitol. Bakteri tersebut mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit dan mampu membentuk indol. Morfologi mikroskopis *Escherichia coli* dengan pengecatan Gram dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Morfologi Sel *Escherichia coli* dengan pengecatan Gram (Sumber: Anonim, 2010 d)
Keterangan: tanda panah menunjukkan sel *Escherichia coli*.

H. 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 (SO_2), karbondioksida (CO_2), dan metana (CH_4) sebagai hasil utama proses dekomposisi anaerobik.
2. Telah terkontaminasi dengan hampir semua bahan yang terlarut dan tersuspensi di dalam sampah.

Awal terbentuknya air lindi adalah dengan adanya perubahan proses dekomposisi dari keadaan aerobik menjadi anaerobik karena oksigen terlarut yang tersedia telah sangat berkurang atau habis (Orth, 1989). 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 nutrien 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 diperolehkan	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)

I. Molase

Menurut Anonim (1998), molase atau tetes tebu 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 dengan *motherliquor*. Molase masih memiliki

beberapa nutrisi penting seperti sukrosa, nitrogen, dan vitamin, serta bersifat agak asam (pH sekitar 5,5-6,5) karena adanya asam organik bebas dan sebagai hasil dari beberapa proses pembuatan gula. Kualitas molase sangat bervariasi, tergantung dua hal, yaitu:

1. Cara pemurnian nira. Kotoran-kotoran akan ikut tercampur ke dalam tetes tebu jika proses pemurniannya kurang sempurna.
2. Lokasi penanaman tebu. Kualitas tebu sangat bermacam-macam, tergantung dari lokasi penanaman dan iklim.

Molase yang berasal dari pabrik gula tidak langsung digunakan di dalam proses produksi alkohol, tetapi harus melalui beberapa proses lebih lanjut. Molase yang digunakan oleh Pabrik Gula Madukismo sebagai bahan baku produksi alkohol dan spirius ditampung di dalam tangki-tangki penyimpanan. Selama masa simpan, diharapkan molase tersebut tidak banyak mengalami perubahan sifat, baik fisik, maupun kimia (Anonim, 1998). Komposisi molase dapat dilihat secara lengkap pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi Molase

No.	Komponen	Rentang (% berat)	Rata-Rata (% berat)
1.	Air	17-25	20
2.	Sukrosa	30-40	35
3.	Dextrosa	4-9	7
4.	Levulosa	5-21	4
5.	Substrat terseduksi 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, fosfolipid	0,1-1	0,4
11.	Impuritas	0,05-0,15	0,1

(Sumber: Anonim, 1998)

J. Hipotesis

Berdasarkan teori yang ada, di dalam penelitian ini dapat diambil hipotesis berupa:

1. Fase stasioner *Penicillium chrysogenum* yang ditumbuhkan pada medium campuran air lindi dan molase terjadi pada waktu 8-10 hari inkubasi.
2. Perlakuan kadar molase 7% dan waktu inkubasi selama 8 hari menghasilkan aktivitas penisilin yang optimal dalam mengambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.