

wang ✓

27
1010710

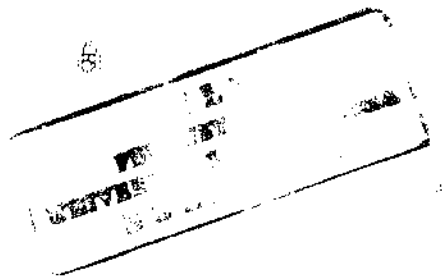
SKRIPSI

YULI AINUN NAJIH

**AKTIVITAS ANTIBIOTKA YANG DIHASILKAN
OLEH *Streptomyces griseus* ATCC 10137 AMOBIL
DALAM MATRIKS POLIAKRILAMID
TINJAUAN TERHADAP PENGARUH VARIASI KONSENTRASI
MONOMER AKRILAMID**

F# 16/08

Ni
C
a



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2007**

Lembar Pengesahan

**AKTIVITAS ANTIBIOTKA YANG DIHASILKAN
OLEH *Streptomyces griseus* ATCC 10137 AMOBIL
DALAM MATRIKS POLIAKRILAMID
TINJAUAN TERHADAP PENGARUH VARIASI KONSENTRASI
MONOMER AKRILAMID**

SKRIPSI

Dibuat Untuk Memenuhi Syarat Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2007

Oleh :

YULI AINUN NAJIH

NIM : 050312818

Skripsi ini telah disetujui
tanggal 21 Agustus 2007 oleh :

Pembimbing Utama

Pembimbing Serta

Dr. A. Foto Poernomo, M.Si., Apt.
NIP. 131 755 998

Dr. Dioko Agus Purwanto, M.Si., Apt.
NIP. 131 653 457

RINGKASAN

AKTIVITAS ANTIBIOTIKA YANG DIHASILKAN OLEH *Streptomyces griseus* ATCC 10137 AMOBIL DALAM MATRIKS POLIAKRILAMID

TINJAUAN TERHADAP PENGARUH VARIASI KONSENTRASI MONOMER AKRILAMID

Dewasa ini kebutuhan akan antibiotik semakin meningkat untuk dapat mengatasi infeksi akibat mikroba. Fenomena tersebut mendorong untuk mencari alternatif produksi antibiotika yang mudah, murah dan efektif. Salah satu metode alternatif yang telah diteliti sebagai metode produksi antibiotika adalah amobilisasi sel. Di bidang bioteknologi, teknik amobilisasi sel secara luas telah diterapkan secara luas di industri-industri, baik industri makanan, minuman, farmasi maupun produk-produk kimia lainnya untuk memproduksi metabolit yang spesifik seperti alkohol, dan produk-produk fermentasi seperti bir, anggur, apel, cuka, kecap, daging, dan susu.

Teknik amobilisasi sel dapat dilakukan melalui sel amobil dan enzim amobil. Pada penelitian ini digunakan sel amobil, artinya penjeratan sel mikroba dalam suatu matriks, sedangkan enzim amobil adalah penjeratan enzim dalam suatu matriks, suatu keuntungan utama dari penggunaan sel amobil dalam memproduksi antibiotika, diantaranya adalah densitas sel dapat ditingkatkan sehingga produksinya dapat meningkat. Selain itu sel amobil dapat digunakan kembali dengan produktivitas metabolit yang relatif stabil. Teknik amobilisasi sel dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu : ikatan dengan *carrier*, ikatan silang dan metode penjebakan. Metode yang terakhir ini sering dilakukan dalam matriks polimer. Matriks yang paling banyak digunakan untuk menjerat sel mikroba adalah gel poliakrilamid. Penggunaan poliakrilamid dipilih karena stabilitasnya cukup baik. Selain itu besarnya kisi-kisi dapat diatur dengan mengubah jumlah akrilamid monomernya, serta prosedur yang digunakan mudah.

Penelitian yang telah dilakukan ini merupakan penerapan teknologi amobilisasi yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibiotika hasil fermentasi dari *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks gel poliakrilamid dengan variasi konsentrasi akrilamid monomer 8 %, 12 %, 16 % dan mengetahui aktivitas antibiotika paling besar terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan dinyatakan sebagai diameter zona hambat. Aktivitas antibiotika paling besar antibiotika yang mampu menghasilkan diameter zona hambatan terbesar.

Metodologi penelitian yang dilakukan adalah pertama-tama membuat media perkecambah biakan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 pada media ISP-4 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada media agar miring NA, kemudian menimbang sel *Streptomyces griseus* ATCC 10137 sebanyak 1 gram untuk diamobilkan. Amobilisasi dilakukan dengan cara sebanyak 1 gram sel ditambahkan ke dalam 6 mL campuran larutan akrilamid 12 %, bisakrilamid 0.7 %, dan 500 μ L ammoniumpersulfat 10 % dan diaduk sampai homogen, terjadilah proses polimerisasi. Gel terbentuk jika didalam larutan tersebut ditambahkan 500 μ L TEMED, kemudian aduk tuang dengan cepat ke dalam cawan petri, tunggu

beberapa detik kemudian terbentuklah gel. Sel amobil yang terbentuk dipotong dengan bentuk kubus dengan diameter 3 mm³. Kemudian sel amobil difermentasi pada media produksi ISP-4 cair steril 50 mL dan dilakukan uji daya hambat untuk mengetahui aktivitas daya hambatan antibiotika yang dihasilkan sel amobil.

Berdasarkan data diameter zona hambatan hasil dari penelitian yang telah dilakukan, kemudian dianalisis dengan menggunakan metode statistika uji sampel berpasangan (*Paired-Sample T Test*) untuk dapat diketahui adanya perbedaan antar variasi konsentrasi monomer akrilamid. Uji statistika dilakukan dengan derajat kepercayaan 95 %, pada konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 %, dan 12 % dan 16 % diperoleh harga P hitung yang sama sebesar 0.000 (P hitung < 0.05). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan, dan disamping itu harga P hitung < 0.01 menunjukkan dalam memberikan perlakuan antar kelompok dilakukan dengan teliti. Sedangkan untuk konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 12 % dengan derajat kepercayaan 95 % diperoleh harga P hitung 0.382, sehingga P hitung > 0.05. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 12 % tidak memberikan perbedaan secara bermakna. Berdasarkan perbandingan rata-rata diameter zona hambat dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibiotika paling besar dicapai sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 12 % pada hari ke-16 dibanding dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 %.

ABSTRACT

Whole cells of *Streptomyces griseus* ATCC 10137, Streptomycin-producing bacteria after 4 days incubation at 30°C in liquid ISP-4 media, were immobilized in polyacrylamide gel prepared by using various concentration of acrylamide monomer (8 %, 12 %, and 16 %) and 0,7 % N,N'-methylenbisacrylamide. The purpose of this research was studied the influenced of antibiotics activity-producing bacteria, and the highest antibiotics activity-producing bacteria were immobilized in polyacrylamide gel by using liquid ISP-4 media, then incubated at 30°C with shaker for 4 days and used as culture starter. In every 24 hours the potency of antibiotics test has assayed using *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 as a microbe test. An inhibition zone which shown as a clear area measured. The antibiotics activity producing bacteria were immobilized polyacrylamide gel with various concentration of acrylamide monomer has shown different activity. In every 96 hours substitution liquid medium ISP-4 with fresh liquid medium ISP-4. Result of research an antibiotics productivity with repeated used immobilized cells was increased. The various concentration of acrylamide monomer has influenced production of antibiotics significantly. It has shown in profil curve resistance zone immobilized, the production from immobilized cells was improved after 24 hours, and then increased after 4 days. The concentration acrylamide monomer 12 % was the highest, and then 8 %, and the last, the lowest was 16 %. The production of antibiotics still shown highed until five time recycle of immobilized cells.

Keyword : Immobilized cells, antibiotics activity, matrices polyacrylamide, *Streptomyces griseus* ATCC 10137.

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmanirrohim

Alhamdulillahirobbil'aallamin. Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya. Sholawat dan salam selalu tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW, karena hanya dengan ridhoNya saya dapat menyelesaikan skripsi dengan judul "**Aktivitas Antibiotika Yang Dihasilkan Oleh *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks Poliakrilamid** (Tinjauan Terhadap Variasi Monomer Akrilamid)" yang diajukan sebagai salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.

Dalam kesempatan ini sya ingin menyampaikan rasa hormat dan mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya pada pihak yang telah banyak membantu dalam menyelesaikan skripsi ini, antara lain kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Achmad Syahrani, MS. selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, atas kesempatan yang diberikan kepada penulis selama mengikuti pendidikan program sarjana.
2. Bapak Kepala Bagian Jurusan Kimia Farmasi dan Bapak Kepala Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas dalam penelitian.
3. Bapak Drs. A. Toto Poernomo, Apt., M.Si. selaku pembimbing utama dan Dr. Djoko Agus Purwanto M.Si., Apt. selaku pembimbing serta, atas segala bimbingan, bantuan, saran dan masukan hingga terselesaikannya skripsi ini.
4. Bapak Dr. H. Hadi Siswono, Apt. dan Ibu Ir. Hj. Rully Susilowati, M.Si. selaku penguji yang telah banyak memberikan masukan dan saran yang sangat bermanfaat untuk perbaikan skripsi ini.
5. Bapak Dwi Setyawan, SSi., M.Si., Apt. selaku dosen wali, yang selalu sabar memberikan bimbingan dan nasehat selama menyelesaikan studi.
6. Para pengajar di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah mengantarkan kami dalam menyelesaikan studi di Fakultas Farmasi.

7. Karyawan bagian Analisis Farmasi, dan Laboratorium Mikrobiologi bagian Kimia Farmasi (Pak Bambang, Pak Ramli, Pak Bakir, Pak Sunar, dan Mas Gun) yang telah banyak membantu dan memberikan dorongan semangat sehingga terselesaikanya skripsi ini.
8. Abah dan ibu tercinta, terima kasih tak terhingga atas ketulusan cinta, doa, kesabaran, perhatian dan pengorbanan yang tak pernah terhenti.
9. Kakak-kakak dan saudara-saudaraku yang saya sayangi Mas ling, mas Copi, mbak Pipit, mbak Nok terima kasih atas segala bantuan, do'a dan dukungan selama ini.
10. Teman-teman seperjuangan, Nasir, Zaki, Rijal, Danang, Herfan, Christian, Ayok, Fathoni, Agung, Sofia, Zakiroh, Mia terima kasih atas kerja sama dan semua bantuan yang telah diberikan.
11. Sahabat-sahabatku anak kost Dani, Daniel, Hendri. Mas Faris dan Kiki terima kasih atas kerja sama dan dorongan semangat yang diberikan selama ini.
12. Seluruh angkatan 2003, khususnya NR-Genap, terima kasih atas kerjasamanya selama ini dan kekompakan kelas kita.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Kesempurnaan ini hanya milik ALLAH SWT dan kebenaran itupun datang dari-Nya, dengan segala kerendahan hati, penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini, maka dari itu kritik dan saran saya perlukan dari berbagai pihak. Semoga bantuan dari berbagai pihak diatas mendapat balasan yang berlebih dari ALLAH SWT dan mudah-mudahan skripsi ini dapat bermanfaat untuk pengembangan ilmu kefarmasian di masa mendatang.

Surabaya, Agustus 2007

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Hipotesis	3
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang <i>Streptomyces griseus</i>	
2.1.1 Klasifikasi <i>Streptomyces griseus</i>	4
2.1.2 Morfologi <i>Streptomyces griseus</i>	4
2.1.3 Pertumbuhan <i>Streptomyces griseus</i>	5
2.1.4 Kebutuhan nutrisi untuk media fermentasi	8
2.1.5 Tinjauan tentang media biak	9
2.1.6 Tinjauan tentang fermentasi <i>Streptomyces griseus</i>	10
2.2 Tinjauan tentang amobilisasi sel	
2.2.1 Tinjauan tentang sel amobil	10
2.2.2 Teknik amobilisasi	11
2.2.3 Penjeratan poliakrilamid	12

2.3 Tinjauan tentang Uji potensi antibiotika	
2.3.1 Metode difusi	14
2.3.1 a. Metode difusi cakram	15
2.3.1 b. Metode difusi silinder	15
2.3.1 c. Metode cetak lubang	15
2.3.2 Metode dilusi	15
2.3.2 a. Metode dilusi padat	16
2.3.2 b. Metode dilusi cair	16
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	17
3.1 Hipotesis	19
BAB IV METODE PENELITIAN	
Rancangan kerja	20
4.1 Bahan dan alat	
4.1.1 Bahan	22
4.1.1 a. Mikroba uji	22
4.1.1 b. Bahan untuk media	22
4.1.1 c. Bahan untuk amobilisasi	22
4.1.2 Alat	22
4.2 Metodologi penelitian	
4.2.1 Pembuatan media	22
4.2.1 a. Media ISP-4	22
4.2.1 b. Media nutrien agar	23
4.2.2 Peremajaan kultur	23
4.2.2 a. Peremajaan <i>Streptomyces griseus</i>	23
4.2.2 b. Peremajaan bakteri uji (<i>Staphylococcus aureus</i>)	23
4.2.3 Pembuatan sel amobil	23
4.2.3 a. Penyiapan inokulum	23
4.2.3 b. Produksi sel	23
4.2.3.c. 1. Amobilisasi sel dalam poliakrilamid	23
2. Variasi konsentrasi bahan amobil terhadap penggunaan sel ulang amobil	24
4.2.4 Fermentasi sel amobil	24

4.2.5 Penggunaan kembali sel amobil	24
4.2.6 Uji potensi antibiotika	24
4.2.6 a Penyiapan media pembenihan bakteri uji	24
4.2.6 b. Uji potensi untuk fermentasi dalam media padat	25
4.2.6 c. Uji statistika	25
BAB V HASIL PENELITIAN	
5.1 Penyiapan media	26
5.2 Pertumbuhan <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137	26
5.3 Pertumbuhan bakteri uji	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	26
5.4 Perbanyakkan sel	26
5.5 Pengaruh variasi konsentrasi monomer akrilamid	
dalam gel poliakrilamid pada amobilisasi sel	27
5.6 Fermentasi <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137 amobil	27
5.7 Uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi sel amobil	28
5.8 Profil kurva antibiotika hasil uji daya hambatan	28
5.9 Penggunaan ulang sel amobil	30
5.10 Analisis data	32
BAB VI PEMBAHASAN	33
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan	37
7.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
5.2 Data pengamatan diameter zona hambatan antibiotika yang dihasilkan oleh <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan variasi monomer akrilamid pada lima kali penggunaan ulang	31

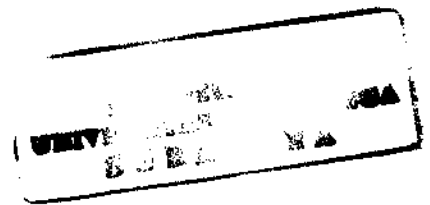
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Kurva pertumbuhan mikroba	6
2.2 Reaksi pembentukan gel poliakrilamid	13
3.1 Kerangka konseptual	18
4.1 Rancangan kerja	21
5.1 Profil diameter zona hambatan hasil uji daya hambatan antibiotika terhadap mikroba uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	30
5.2 Profil pengaruh penggunaan ulang sel amobil terhadap diameter zona hambatan hasil uji daya hambatan antibiotika	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Komposisi media <i>International Streptomyces Project-4</i> (ISP-4 padat)	40
2. Komposisi media <i>International Streptomyces Project-4</i> (ISP-4 cair)	41
3. Komposisi media nutrien agar	42
4. Data pengamatan diameter zona hambatan antibiotika yang dihasilkan oleh <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan variasi monomer akrilamid sebesar 8 %, 12 %, 16 %	43
5. Hasil uji t dua sampel berpasangan (<i>Paired-Sample T Test</i>)	45
6. Kubus hasil amobilisasi sel <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137 dalam matriks gel poliakrilamid	47
7. Matriks penjebak (poliakrilamid) dengan mikroskop perbesaran 100x dan Gambar sel yang terjebak dalam matriks poliakrilamid dilihat dengan mikroskop dengan perbesaran 100x	48
8. Hasil uji aktivitas	49
9. Perbanyakan sel <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137	52
10. Proses amobilisasi sel	53
11. Penggunaan ulang sel amobil	54
12. Uji daya hambat antibiotika	55
13. Perbanyakan <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137 dan Peremajaan <i>Staphylococcus aureus</i>	56

BAB I PENDAHULUAN



1.1 Latar Belakang Masalah

Streptomyces griseus merupakan salah satu jenis mikroba dari genus *Streptomyces* yang produktif, mampu menghasilkan antibiotika golongan aminoglikosida seperti streptomisin, grisein, streptothricin (Reynolds *et.al.*, 1948). Galur *Streptomyces griseus* yang digunakan pada penelitian ini menurut katalog American Type Culture Collection / ATCC (1991) dan Bergey's Manual (1987) termasuk galur penghasil streptomisin. *Streptomyces griseus* ATCC 10137 yang ditumbuhkan dalam media International Streptomyces Project-4 (ISP-4) dapat memproduksi antibiotika golongan aminoglikosida (Isnaeni, 1998)

Produksi antibiotika secara mikrobiologi perlu diperhatikan jenis nutrisi yang diperlukan oleh bakteri dan juga lingkungan fisik yang menyediakan kondisi optimum pertumbuhannya. Sejumlah faktor seperti pH, suhu dan aerasi harus benar-benar dikontrol untuk memacu produksi antibiotika. Spesies mikroba yang berbeda sangat beragam kisaran temperatur optimalnya untuk tumbuh, bentuk *psychrophilic* tumbuh paling baik pada temperature rendah (15°C-20°C), bentuk *mesophilic* tumbuh paling baik pada 30°C-37°C dan kebanyakan bentuk *thermophilic* tumbuh paling baik pada 50°C-60°C (Jawetz *et.al.*, 2001).

Dewasa ini kebutuhan akan antibiotik semakin meningkat untuk dapat mengatasi infeksi akibat mikroba. Fenomena tersebut mendorong untuk mencari alternatif produksi antibiotika yang mudah, murah dan efektif. Salah satu metode alternatif yang telah diteliti sebagai metode produksi antibiotika adalah amobilisasi sel. Di bidang bioteknologi, teknik amobilisasi sel secara luas telah diterapkan secara luas di industri-industri, baik industri makanan, minuman, farmasi maupun produk-produk kimia lainnya untuk memproduksi metabolit yang spesifik (Nevodic *et.al.*, 1996) seperti alkohol, dan produk-produk fermentai seperti bir, anggur, apel, cuka, kecap, daging, dan susu (Nevodic *et.al.*, 2005).

Teknik amobilisasi sel dapat dilakukan melalui sel amobil dan enzim amobil. Pada penelitian ini digunakan sel amobil, artinya penjeratan sel mikroba dalam suatu

matriks, sedangkan enzim amobil adalah penjeratan enzim dalam suatu matriks, suatu keuntungan utama dari penggunaan sel amobil dalam memproduksi antibiotika, diantaranya adalah densitas sel dapat ditingkatkan sehingga produksinya dapat meningkat. Selain itu sel amobil dapat digunakan kembali dengan produktivitas metabolit yang relatif stabil (Nevodic *et.al.*, 2005).

Matriks yang digunakan untuk menjerat sel mikroba adalah gel poliakrilamid. Peter dan Eric (1987) telah melaporkan bahwa sel mikroba yang diamobilkan dengan metode penjeratan dalam poliakrilamid lebih sering dilakukan bila dibandingkan dengan penggunaan bahan penjerat lainnya, seperti alginate, selulosa, k-karagenan, ataupun gelatin. Penggunaan poliakrilamid dipilih karena stabilitasnya cukup baik. Selain itu besarnya kisi-kisi dapat diatur dengan mengubah jumlah akrilamid monomernya, serta prosedur yang digunakan mudah.

Penelitian amobilisasi sel menggunakan matriks gel poliakrilamid pernah dilakukan oleh Morikawa *et.al.*, (1978). Penelitian tersebut dilakukan untuk mengetahui aktivitas antibiotika basitrasin yang dihasilkan *Basillus sp* dengan menggunakan matriks gel poliakrilamid. Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa dengan menggunakan metode amobilisasi, antibiotika basitrasin yang dihasilkan meningkat secara bertahap dan batas maksimal mencapai keadaan tetap atau konstan sekitar 80-90% dari aktivitas awal menghasilkan antibiotika dengan sel bakteri. Disamping penelitian yang dilakukan oleh Morikawa *et.al.*, metode amobilisasi juga terdapat penelitian-penelitian pada enzim amobil dengan matrik poliakrilamid gel yang dilakukan oleh Chibata *et.al.*, (1973) tentang enzim aspartase yang dihasilkan dari *E.coli*, dan J.Rossi *et.al.*, (1982) tentang katabolisme asam malat dalam matrik poliakrilamid gel.

Berdasarkan penelitian tersebut diatas, penelitian yang akan dilakukan ini merupakan penerapan teknologi amobilisasi yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibiotika yang dihasilkan dari *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matrik gel poliakrilamid dengan variasi konsentrasi monomer akrilamid. Amobilisasi sel dilakukan dengan menggunakan metode penjeratan dengan gel poliakrilamid, karena sifat hidrofil gel poliakrilamid cukup kuat setelah proses amobilisasi, maka kerusakan gel pada penggunaan ulang dapat dikurangi. Diharapkan dari penelitian ini dapat diketahui konsentrasi akrilamid

monomer yang paling besar yang mampu memproduksi antibiotika dengan aktivitas tertinggi, yaitu antibiotika yang mampu menghasilkan diameter zona hambatan terbesar.

1.1 Rumusan Masalah

1. Apakah ada perbedaan pengaruh variasi konsentrasi monomer akrilamid terhadap aktivitas antibiotika yang dihasilkan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil?
2. Berapakah konsentrasi monomer akrilamid dalam menghasilkan aktivitas antibiotika yang paling besar dari *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil?

1.2 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui adanya perbedaan pengaruh variasi konsentrasi monomer akrilamid terhadap aktivitas antibiotika yang dihasilkan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil.
2. Mengetahui konsentrasi monomer akrilamid dalam menghasilkan aktivitas antibiotika yang paling besar dari *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil.

1.3 Hipotesis

Ada pengaruh konsentrasi monomer akrilamid terhadap aktivitas antibiotika yang dihasilkan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks gel poliakrilamid.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah

Hasil penelitian yang diperoleh diharapkan dapat digunakan sebagai pedoman amobilisasi sel menggunakan poliakrilamid gel pada penggunaan ulang berikutnya.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang *Streptomyces griseus*

2.1.1 Klasifikasi *Streptomyces griseus*

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Schizophyta
Class	: Schyzomycetes
Ordo	: Actinomycetales
Famili	: Streptomycetaceae
Genus	: Streptomyces
Spesies	: <i>Streptomyces griseus</i>
Strain	: <i>Streptomyces griseus</i> ATCC 10137

2.1.2 Morfologi *Streptomyces griseus*

Streptomyces griseus merupakan salah satu golongan dari ordo actinomycetales, bila dilihat dibawah mikroskop nampak sel-selnya yang memanjang (bentuk basil/silinder) sehingga mirip hifa cendawan, dan cenderung membentuk percabangan dan salah satu famili atau sukunya adalah Streptomycetaceae (Gembong, 2003). Ditinjau dari struktur dinding selnya, *Streptomyces griseus* termasuk golongan bakteri gram positif, non-motil. Bersifat aerobic, heterorof, suhu inkubasi optimum 25°C (Anonim, 2005).

Karakteristik perkembang-biakan bakteri umumnya secara vegetatif atau aseksual dengan membelah diri, misalnya spora. Pembentukan spora terjadi karena kondisi lingkungan sekitar yang kurang menguntungkan sehingga untuk bisa bertahan hidup, sel-sel bakteri membentuk badan-badan. Protoplas dengan zat-zat makanan cadangan yang terkandung didalamnya mengadakan kontraksi menjadi badan yang bulat dengan dinding baru. Badan ini disebut *spora*, lebih tepat *endospora*, karena terbentuk di dalam sel yang lama. Spora bakteri tidak dapat dipandang sebagai alat reproduksi, akan tetapi suatu badan untuk mempertahankan diri menghadapi keadaan yang tidak menguntungkan, misalnya kekeringan, suhu yang tinggi atau amat rendah, zat-zat kimia yang bersifat desinfektan,

dan lain-lain. Bila keadaan kembali seperti biasa, spora itu tumbuh kembali menjadi sel biasa (Gembong, 2003).

Tubuh yang kecil dan cara hidup yang beraneka ragam memungkinkan bakteri untuk hidup dalam bermacam-macam habitat. Bakteri dapat ditemukan dimana-mana, dalam tanah, air, sisa-sisa makhluk hidup, pada dan di dalam tubuh makhluk hidup, bahkan sebutir debu dalam atmosfer pun mungkin menjadi substratnya (Gembong, 2003).

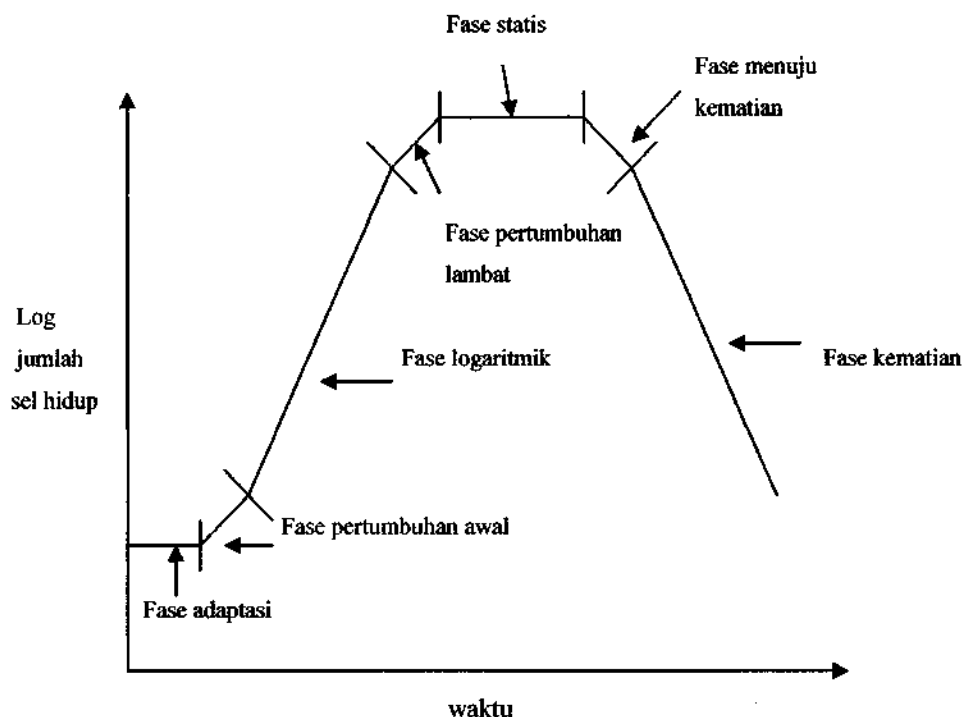
Genus dari *Streptomyces* mampu menghasilkan bermacam-macam antibiotika. *Streptomyces griseus* merupakan salah satu jenis mikroba dari genus *Streptomyces* yang produktif, mampu menghasilkan antibiotika golongan aminoglikosida seperti streptomisin, grisein, streptothricin (Reynolds *et al.*, 1948). Aminoglikosida merupakan senyawa yang terdiri dari 2 atau lebih gugus gula amino yang terikat lewat ikatan glikosida pada inti heksosa. Heksosa tersebut atau aminosiklitol, ialah streptidin pada streptomisin atau 2-deoksistreptamin pada aminoglikosida lain. Mekanisme kerjanya berdifusi lewat kanal air yang dibentuk oleh porin protein pada membran luar dari bakteri Gram negatif masuk ke ruang periplastmik. Sedangkan transport melalui membran dalam sitoplasma membutuhkan energi. Setelah masuk sel, aminoglikosida terikat pada ribosom 30s dan menghambat sintesis protein. Terikatnya aminoglikosida pada ribosom ini mempercepat transport aminoglikosida ke dalam sel, diikuti dengan kerusakan membran sitoplasma, dan disusul kematian sel yang diduga terjadi adalah "salah baca" kode genetik yang mengakibatkan terganggunya sintesis protein. Antibiotika aminoglikosida ini dapat digunakan untuk penanggulangan infeksi berat oleh kuman Gram negatif. Aktifitasnya terutama terhadap *Bacillus tbc* dan menjadi antibiotika utama untuk kemoterapi tuberculosis (Ganiswara, 1995).

2.1.3 Pertumbuhan *Streptomyces griseus*

Pertumbuhan adalah peningkatan secara teratur jumlah semua komponen suatu organisme. Jadi peningkatan ukuran yang terjadi ketika sebuah sel mengambil air atau menyimpan lipida atau polisakarida bukanlah pertumbuhan yang sebenarnya. Multiplikasi sel merupakan akhir dari pertumbuhan. Pada organisme uniseluler, pertumbuhan mengarah pada suatu peningkatan dalam

jumlah individu-individu yang menghasilkan suatu populasi atau kultur (Jawetz *et.al.*, 2001)

Pertumbuhan bakteri dapat diukur berdasarkan konsentrasi sel (jumlah sel per satuan isi biakan). Konsentrasi sel adalah jumlah sel hidup, biasanya dianggap sebagai ukuran konsentrasi sel (Jawetz, 1984). Pertumbuhan mikroba di dalam suatu kultur mempunyai kurva seperti yang digambarkan sebagai berikut :



Gambar 2.1. Kurva pertumbuhan kultur mikroba (Fardiaz, 1987)

Dari kurva diatas dapat diketahui bahwa pertumbuhan bakteri dibagi menjadi beberapa fase yaitu:

1. Fase Adaptasi

Jika mikroba dipindahkan ke dalam suatu media, maka mikroba tersebut akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan diri dengan lingkungan di sekitarnya. Lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu media dan lingkungan pertumbuhan serta jumlah inokulum. Sel yang ditempatkan dalam media dan lingkungan pertumbuhan yang sama seperti media dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan fase adaptasi. Jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru sangat berbeda dengan sebelumnya, diperlukan

waktu penyesuaian untuk mensintesis enzim-enzim yang dibutuhkan untuk metabolisme (Fardiaz, 1992).

2. Fase Pertumbuhan Awal

Setelah mengalami fase adaptasi, mikroba mulai membelah dengan kecepatan yang rendah karena baru menyesuaikan diri (Fardiaz, 1992).

3. Fase Logaritmik

Pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya, seperti pH dan kandungan nutrient, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini membutuhkan energi lebih banyak dibandingkan dengan fase lainnya, selain itu sel paling sensitif terhadap kondisi lingkungan (Fardiaz, 1992).

4. Fase Pertumbuhan Lambat

Pada fase ini pertumbuhan populasi mikroba diperlambat karena beberapa sebab, yaitu zat-zat nutrisi di dalam medium sudah sangat kurang, dan adanya hasil-hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Pada fase ini pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati (Fardiaz, 1992).

5. Fase Pertumbuhan Tetap (Statis)

Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah mulai habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi dan bahan-bahan kimia (Fardiaz, 1992).

6. Fase Menuju Kematian dan Fase Kematian

Pada fase ini sebagian populasi mikroba mulai mengalami kematian karena nutrient di dalam media dan energi cadangan di dalam sel sudah habis. Pada fase kematian yang merupakan fase terakhir siklus pertumbuhan mikroba,

kecepatan kematian tergantung pada kondisi nutrient, lingkungan dan jenis mikroba (Fardiaz, 1992).

2.1.4 Kebutuhan Nutrisi Untuk Media Pertumbuhan

Media yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme tergantung dari tersedianya air. Bahan-bahan yang terlarut dalam air digunakan untuk membentuk bahan sel dan memperoleh energi, adalah makanan. Tuntutan berbagai mikroorganisme yang menyangkut susunan larutan makanan dan persyaratan lingkungan tertentu, sangat berbeda-beda. Pada dasarnya sesuatu larutan biak sekurang-kurangnya harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut. Di dalamnya harus tersedia unsur yang ikut serta pada pembentukan bahan sel dalam bentuk berbagai senyawa yang dapat diolah.

Kebutuhan nutrien pokok

Berdasarkan susunan kimia sel, unsur-unsur yang terpenting yaitu 10 unsur makro: karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, belerang, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, besi, dan unsur-unsur mikro: mangan, molibden, seng, tembaga, kobalt, nikel, vanadium, bor, klor, natrium, selenium, silica, wolfram, dan lain-lain yang tidak diperlukan oleh semua organisme (Schagel H. G., 1994)

Zat-zat pelengkap

Banyak organisme memerlukan disamping mineral-mineral, juga zat pelengkap, yang disebut juga faktor-faktor pertumbuhan atau suplemen. Yang termasuk dalam suplemen ini terdiri dari tiga kelompok zat: asam-asam amino, senyawa purin, senyawa pirimidin dan vitamin-vitamin. Asam-asam amino, senyawa purin dan pirimidin merupakan bagian dari senyawa protein dan asam-asam nukleat dan oleh sel diperlukan dalam jumlah yang sesuai (Schagel H. G., 1994).

Belerang dan Nitrogen

Kedua unsur ini terdapat dalam sel dalam bentuk tereduksi, sebagai gugus sulfhidril (-SH) dan amino. Sumber nitrogen yang paling lazim untuk mikroorganisme adalah garam-garam amonium. Beberapa prokariot mampu mereduksi nitrogen molekul, sedangkan mikroorganisme lain memerlukan asam-asam amino sebagai sumber nitrogen (Schagel, H. G., 1994).

2.1.5 Tinjauan Tentang Media

Keragaman yang luas dalam hal tipe nutrisi di antara bakteri diimbangi oleh tersedianya berbagai media yang banyak macamnya untuk pembiakkannya. Macam media yang tersedia dapat dikelompokkan sebagai berikut:

Media sintetik

Sesuatu larutan yang dapat dibuat dari senyawa-senyawa kimia tertentu, disebut media sintetik. Harus diusahakan agar untuk setiap mikroorganisme dapat ditetapkan kebutuhan bahan nutrisi dan mengembangkan media minimum yang tidak mengandung lebih banyak komponen daripada yang diperlukan untuk pertumbuhan (Schagel, H. G., 1994)

Media kompleks

Untuk kebanyakan mikroorganisme biasanya orang membiakkannya dalam larutan yang mengandung ekstrak ragi, pepton, atau ekstrak daging. Mengingat biaya, larutan-larutan tidak dibentuk dari senyawa-senyawa murni tetapi lebih disukai untuk menggunakan zat-zat kompleks, seperti air mendidih, molases, air rendaman jagung atau ekstrak kedele. Yang sebagai produk sisa tersedia dengan harga murah. Media seperti ini disebut media kompleks (Schagel, H. G., 1994).

Media padat

Untuk membuat media padat pada larutan cair ditambahkan bahan pematat yang memberikan konsistensi seperti selai pada larutan air, gelatin. Bahan pematat yang hampir ideal adalah agar. Agar adalah polisakarida dengan susunan kompleks dan terajut kuat berasal dari ganggang laut. Agar baru mencair pada 100°C, masih tetap cair kalau didinginkan sampai 45°C (Schagel, H. G., 1994).

Berikut merupakan contoh-contoh media cair dan padat yang relatif sederhana yang menunjang pengembang biakan bakteri yang umum adalah nutrien kaldu dan agar. Persamaan komposisi dari nutrien kaldu dan agar yaitu adanya ekstrak daging sapi, pepton, dan air. Sedangkan perbedaannya terletak pada pemberian bahan pematat berupa agar, oleh karena itu disebut agar nutrien (Pelczar, M., 1986).

2.1.6 Tinjauan Tentang Fermentasi *Streptomyces griseus*

Proses fermentasi sering didefinisikan sebagai proses pemecahan karbohidrat dan asam amino secara anaerobik, yaitu tanpa memerlukan oksigen. Senyawa yang dapat dipecah dalam proses fermentasi terutama adalah karbohidrat, sedangkan asam amino hanya dapat difermentasi oleh beberapa jenis bakteri tertentu (Fardiaz, 1992). Fermentasi dipengaruhi pula kondisi lingkungan yang diperlukan bagi pertumbuhan mikroba yaitu suhu, udara (oksigen), kelembaban, garam, asam. Fermentasi yang pernah dilakukan dengan *Streptomyces griseus* untuk memproduksi antibiotik streptomisin dapat dilakukan dengan media biak sintetik (Shirato, S., dan Motoyama, H., 1966).

Fermentasi terbagi dua tipe berdasarkan tipe kebutuhan akan oksigen yaitu tipe aerobik dan anaerobik. Tipe aerobik adalah fermentasi yang pada prosesnya memerlukan oksigen. Semua organisme untuk hidupnya memerlukan sumber energi yang diperoleh dari hasil metabolisme bahan pangan, di mana organisme itu berada. Mikroorganisme adalah organisme yang memerlukan energi tersebut. Bahan energi yang paling banyak digunakan mikroorganisme untuk tumbuh adalah glukosa. Dengan adanya oksigen maka mikroorganisme dapat mencerna glukosa menghasilkan air, karbondioksida dan sejumlah besar energi.

Sedangkan tipe anaerobik adalah fermentasi yang pada prosesnya tidak memerlukan oksigen. Beberapa mikroorganisme dapat mencerna bahan energinya tanpa adanya oksigen. Jadi hanya sebagian bahan energi itu dipecah, yang dihasilkan adalah sebagian dari energi, karbondioksida dan air, termasuk sejumlah asam laktat, asetat, etanol, asam volatile, alkohol dan ester.

2.2 Tinjauan Tentang Amobilisasi Sel

2.2.1 Tinjauan Tentang sel Amobil

Sel amobil adalah sel yang secara fisiologis terjebak atau terlokalisasi dalam tempat yang dapat digunakan secara cepat dan kontinyu serta dapat digunakan ulang (Nevodic *et.al.*, 2005)

Beberapa keuntungan yang diperoleh dari penggunaan sel amobil jika dibandingkan dengan sel bebasnya yaitu (Nevodic *et.al.*, 2005): (1) Dapat meningkatkan densitas sel sehingga dapat meningkatkan produksinya. (2) Kontrol dan penanganan lebih mudah. (3) Kualitas produk yang dihasilkan konstan. (4)

Dapat digunakan kembali. (5) Dapat memperkecil biaya yang diperlukan. (6) Dapat mengurangi resiko kontaminasi mikroba.

Berdasarkan penelitian terdahulu, dilaporkan bahwa teknik amobilisasi sel telah banyak bermanfaat dalam produksi antibiotika, seperti basitrasin (Morikawa *et.al.*,1978), Sedangkan dalam teknologi produksi makanan dan minuman, saat ini teknik amobilisasi sel telah banyak diterapkan untuk memproduksi metabolit yang spesifik seperti enzim, alkohol, dan produk-produk fermentasi seperti bir, anggur, apel, cuka, kecap, daging, dan susu (Nevodic *et.al.*,2005).

2.2.2 Teknik Amobilisasi

Metode amobilisasi sel secara luas telah dikembangkan oleh banyak peneliti. Namun pada dasarnya merupakan modifikasi dari metode-metode yang sudah ada. Metode-metode tersebut dapat dibagi menjadi adsorpsi, penjeratan, ikatan kovalen.

a. Adsorpsi

Pada metode merupakan cara yang tertua dalam amobilisasi enzim (Fardiaz, 1988). Pada metode ini, sel secara alami akan terikat pada permukaan pembawa, dimana akan terjadi interaksi elektrostatik antara ikatan ion pendukung dengan ion dinding sel melalui cara kekuatan ikatan Van Der Waals, ionik, atau ikatan hidrogen. Pengikatan sel mikroba pada pembawa mudah dilakukan dan kondisinya mudah diatur dibandingkan dengan kondisi yang diperlukan untuk metode ikatan kovalen. Namun, metode ini kurang ideal untuk amobilisasi karena muatan pada dinding sel mudah berubah oleh pengaruh pH media, karena dinding sel menunjukkan karakter bisa bertindak sebagai anion ataupun kation. Kerugian lain metode yaitu terjadi kehilangan atau lepasnya sel dari pembawa. Cara penerapannya adalah mensuspensikan ke dalam bahan pembawanya yang tidak larut dalam air. Pembawa yang digunakan dapat berupa potongan kayu, pasir, resin penukar ion dan bahan organik seperti selulose dan karbon aktif (Chibata, *et.al.*, 1986).

b. Ikatan kovalen

Pada metode ikatan kovalen, ikatan antara pendukung dengan sel dapat lebih kuat dibandingkan dengan adsorpsi. Hal ini dapat mengurangi hilangnya sel. Gelatin dan citosan adalah salahsatu bahan yang dapat digunakan untuk amobilisasi

sel dengan cara ini. Hal ini telah dilaporkan oleh Doran dan Bailey (1986) yang telah meneliti efek amobilisasi terhadap pertumbuhan *Saccharomyces cereviceae*. Ikatan dengan pendukung dapat juga dimodifikasi dengan penambahan reagen kimia, misalnya pada amobilisasi *Lactobacillus casei* pada keramik yang dimodifikasi dengan penambahan polietilenimin (Guoqiang *et. al.*, 1992)

c. Penjeratan

Enzim atau sel dapat juga diamobilisasi dengan metode penjeratan. Metode ini dilakukan karena enzim atau sel tidak terikat dengan matriks atau membran. Metode penjeratan dapat dibedakan atas dua macam yaitu:

a. Penjeratan di dalam kapsul (mikrocenkapsulasi)

Kapsul yang digunakan merupakan membran yang terbuat dari berbagai polimer, dengan ukuran bervariasi yaitu mulai kurang dari satu mikron sampai beberapa mikron (Fardiaz, 1988).

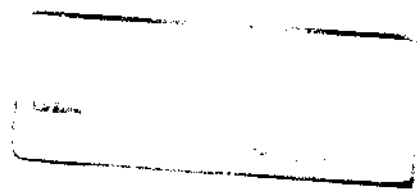
b. Penjeratan di dalam matriks polimer (entrapment)

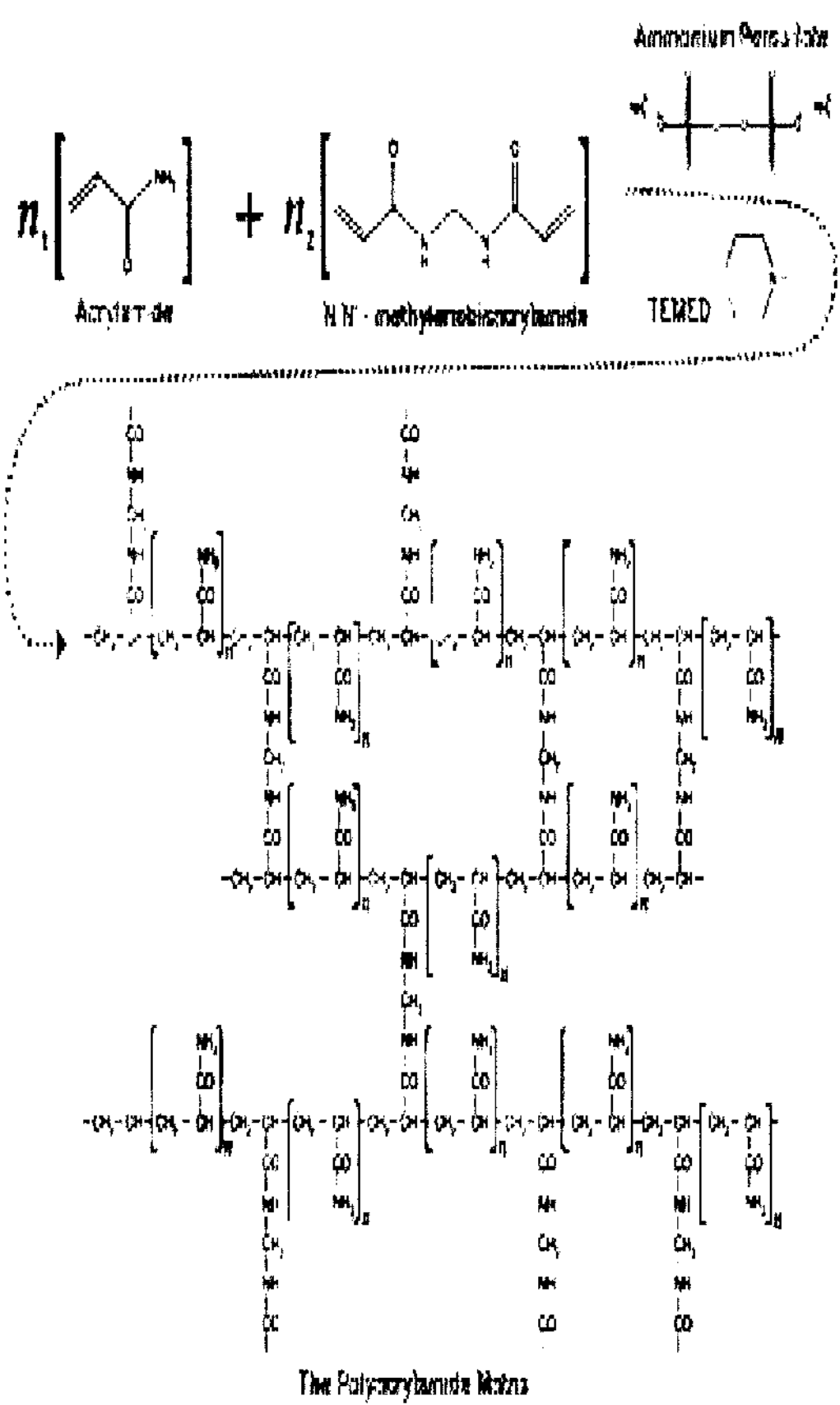
Pada teknik penjeratan, secara fisik dijerat dalam polimer yang terbuat dari alam atau sintetik (Fardiaz, 1988). Berbagai matriks atau membran dapat digunakan untuk amobilisasi sel yaitu kolagen, gelatin, agar, alginat, karagenan, selulosa, poliakrilamid, dan sebagainya. Dari matriks tersebut yang paling banyak digunakan selama ini adalah poliakrilamid (Ramakrishna, V.S., dan Prakasham, S.R., 1999).

2.2.3 Penjeratan Poliakrilamid

Metode penjeratan dengan menggunakan gel poliakrilamid pertama kali dilakukan oleh Mosbach pada tahun 1966 yang diterapkan pada sel *Umbilicaria pustulata*.

Mekanisme pembentukan gel poliakrilamid yaitu terjadinya peristiwa polimerisasi radikal bebas dari monomernya. Reaksi pembentukan monomer disajikan pada gambar 1.





Gambar 2.2 : Reaksi pembentukan gel poliakrilamid (National Diagnostic, 2005)

Selain teknik persiapannya yang mudah, teknik dengan menggunakan poliakrilamid ini, dapat diatur kisi-kisi dengan merubah konsentrasi monomer dan reagen bifungsinya (Chibata, 1978).

Proses polimerisasi poliakrilamid yang terjadi adalah akrilamid dan N,N"-metilenbisakrilamid. Poliakrilamid akan terjadi polimerisasi dengan penambahan ammonium persulfat, dan sebagai katalisator kimia digunakan β -dimetilaminopropionitril (DMAPN) atau N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED) (National Diagnostis, 2005). Polimerisasi ini dikerjakan secara normal pada larutan bufer isotonis dan pada temperatur yang rendah, sebab pada proses polimerisasi akan dapat menimbulkan panas. Oleh karena itu, pelaksanaannya dilakukan pada suhu rendah yaitu 4°C. Kerugian menggunakan gel poliakrilamid adalah sifat toksik akrilamid, reagen silang, inisiator dan akseleratornya, sehingga untuk pelaksanaan biokonversi yang berkaitan dengan bidang industri makanan, poliakrilamid ini tidak digunakan sebagai bahan amobil .

2.3 Tinjauan Metode Uji Potensi Antibiotika

Aktivitas (potensi) antibiotika dapat ditunjukkan pada kondisi yang sesuai dengan efek daya hambatannya terhadap mikroba. Suatu penurunan aktivitas antimikroba juga akan dapat menunjukkan perubahan kecil yang tidak dapat ditunjukkan oleh metode kimia, sehingga pengujian secara mikrobiologi atau biologi biasanya merupakan standar untuk mengatasi keraguan tentang kemungkinan hilangnya aktivitas (Anonim, 1995).

Penentuan potensi antibiotika secara in-vitro berguna untuk menguji kepekaan suatu mikoba terhadap anibiotika. Kepekaan tersebut dapat dilihat dari konsentrasi minimum untuk hambatn oleh suatu antibiotika terhadap mikroba tertentu. Macam metode yang dapat digunakan untuk uji potensi antibiotika dibagi menjadi metode dilusi dan difusi.

2..3.1 Metode Difusi

Metode ini didasarkan pada difusi antibiotika dari pencadang ke dalam media yang telah ditanam bakteri uji. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam akan tampak daerah jernih disekitar pencadang antibiotika dimana terjadi hambatan pertumbuhan mikroba uji dan daerah keruh yang mengelilingi daerah jernih. Diameter daerah jernih disekeliling pencadang antibiotika dikenal dengan

diameter daerah hambatan yang sebanding dengan aktivitas antibiotika dalam pencadang. Makin besar diameter daerah hambatan, makin besar pula aktivitas senyawa yang diuji terhadap mikroba uji. Berdasar pencadang antibiotika yang digunakan, metode uji antibiotika dapat dibedakan menjadi metode difusi cakram, difusi silinder, dan cetak lubang.

2.3.1 a. Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram ini menggunakan kertas sebagai pencadang antibiotika. Kertas dijenuhkan dengan antibiotika dan diletakkan pada permukaan agar. Adanya variabilitas produk kertas menyebabkan kandungan antibiotika pada kertas tidak dapat diperkirakan dengan tepat.

2.3.1 b. Metode Difusi silinder

Metode ini menggunakan silinder logam atau gelas sebagai pencadang silinder logam atau gelas yang berisi larutan antibiotika dengan kadar tertentu. Jumlah larutan antibiotika dapat diatur sehingga menjamin tersedianya antibiotika dalam pencadang selama waktu inkubasi. Potensi antibiotika sebanding dengan lebar diameter daerah hambatan pada agar disekitar silinder. Metode inilah yang akan digunakan uji potensi antibiotika yang dihasilkan pada penelitian kali ini.

2.3.1 c. Metode Cetak Lubang

Metode cetak lubang menggunakan lubang sebagai pencadang antibiotika. Lubang yang terbentuk dengan diameter lebih kurang 4-6 mm kemudian diisi dengan larutan antibiotika dengan kadar tertentu.

2.3.2 Metode Dilusi

Prinsip metode ini adalah pengenceran larutan antibiotika dalam media pertumbuhan dimulai dari konsentrasi tinggi sampai konsentrasi rendah. Kemudian bakteri uji dalam jumlah tertentu ditanam dalam media pertumbuhan. Setelah diinkubasi, akan terlihat hambatan pertumbuhan bakteri uji. Metode dilusi ini dapat digunakan untuk menentukan konsentrasi hambatan minimal.

Berdasarkan media pertumbuhan yang digunakan, metode dilusi dapat dibedakan menjadi metode dilusi padat dan cair.

2.3.2 a. Metode Dilusi Padat

Larutan antibiotika dengan berbagai konsentrasi dimasukkan ke dalam lempeng agar padat yang berlainan. Isolat bakteri kemudian ditanam dalam lempeng agar. Setelah diinkubasi akan terlihat kadar hambatan minimum. Jika bakteri uji resisten terhadap antibiotika yang diuji, maka mikroba akan tumbuh dan terlihat koloni pertumbuhan bakteri.

2.3.2 b. Metode Dilusi Cair

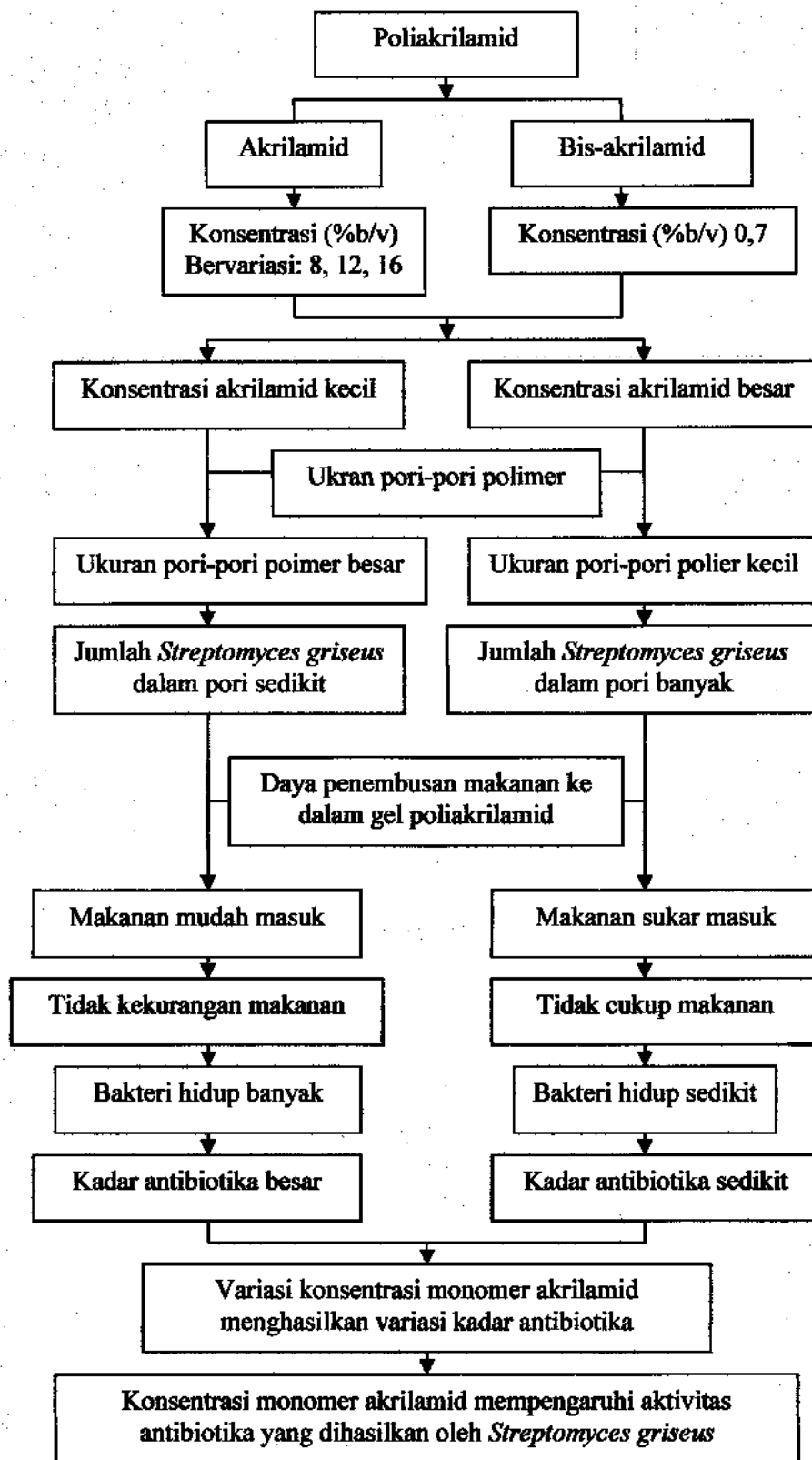
Tabung yang berisi media yang masing-masing mengandung antibiotika dengan konsentrasi yang berbeda. Selanjutnya, isolat bakteri uji ditanamkan ke dalam setiap tabung dan di inkubasi selama 18-24 jam pada suhu 30°C. Setelah itu, hambatan pertumbuhan ditentukan dengan melihat kekeruhan masing-masing tabung. Konsentrasi hambatan minimum secara makroskopis adalah konsentrasi dengan pengenceran tertinggi yang tetap jernih.

BAB III

KERANGKA KOSEPTUAL

Dewasa ini kebutuhan akan antibiotika semakin meningkat untuk dapat mengatasi infeksi akibat mikroba. Fenomena ini mendorong untuk mencari alternatif produksi antibiotika yang murah, mudah, efektif, maka metode yang digunakan dipilih metode amobilisasi sel. Sel bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Streptomyces griseus* yang merupakan penghasil antibiotika golongan aminoglikosida. Metode amobilisasi sel adalah metode penjebakan sel yang secara fisiologis terjebak atau terlokalisasi dalam tempat yang dapat digunakan secara cepat dan kontinyu serta dapat digunakan ulang (Nevodic *et.al.*, 2005). Matriks yang paling banyak digunakan dalam penjebakan adalah matriks poliakrilamid.

Proses polimerisasi poliakrilamid yang terjadi adalah akrilamid dan N,N'-metilenbisakrilamid. Poliakrilamid akan terjadi polimerisasi dengan penambahan ammonium persulfat, dan sebagai katalisator kimia digunakan β -dimetilaminopropionitril (DMAPN) atau N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED) (National Diagnostisic, 2005). Penelitian kali ini menggunakan variasi konsentrasi monomer akrilamid (8 %, 12 %, dan 16 %) dan 0.7 % monomer bisakrilamid dengan penambahan ammonium persulfat 10 % dan sebagai katalisator digunakan N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED). Konsentrasi monomer akrilamid kecil diwakili oleh konsentrasi 8 %, sedangkan konsentrasi besar diwakili oleh konsentrasi 12 % dan 16 %. Pada konsentrasi kecil ukuran pori-pori polimer yang dihasilkan besar, sehingga makanan mudah masuk menembus gel poliakrilamid, akibatnya bakteri banyak yang hidup dan kadar antibiotika yang dihasilkan besar, dan sebaliknya untuk konsentrasi besar, ukuran pori-pori polimernya kecil, sehingga makanan sukar menembus gel poliakrilamid, akibatnya bakteri yang hidup sedikit dan kadar antibiotika yang dihasilkan sedikit. Berdasarkan pemikiran tersebut diatas bahwa variasi konsentrasi monomer akrilamid dapat menghasilkan variasi kadar antibiotika, sehingga dapat mempengaruhi aktivitas antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces griseus*.



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

3.1 Hipotesis :

Ada pengaruh variasi konsentrasi monomer akrilamid terhadap aktivitas antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces griseus*.

BAB IV METODE PENELITIAN

Pada penelitian yang akan dilakukan ini bertujuan untuk menentukan aktivitas antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan tinjauan terhadap pengaruh variasi konsentrasi monmer akrilamid. Adapun rancangan kerjanya sebagai berikut, pertama pembuatan media ISP-4 padat sebagai media pertumbuhan *Streptomyces griseus* ATCC 10137. Komponen bahan untuk membuat ISP-4 didapatkan dari Laboratorium Kimia Farmasi, Universitas Airlangga. Sedangkan untuk *Streptomyces griseus* ATCC 10137 didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi, Fakultas Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung.

Peremajaan sel dilakukan dengan cara sel *Streptomyces griseus* ATCC 10137 yang didapatkan dari galur murni digoreskan dalam media ISP-4 padat tersebut, lalu diinkubasi pada suhu 28°C. Inokulum setelah berumur 2-4 hari siap untuk diinokulasi. Lalu dilakukan produksi sel dalam jumlah besar dalam media ISP-4 cair. Dilakukan produksi sel bertujuan untuk mendapatkan sel *Streptomyces griseus* ATCC 10137 sebesar 1 gram lalu dimasukkan ke dalam matriks gel poliakrilamid untuk diamobilkan.

Amobilisasi sel dalam matriks poliakrilamid dapat dilakukan dengan cara sebanyak 1 gram sel ditambah dengan buffer salin pH 7,4, lalu ditambahkan ke dalam campuran larutan akrilamid dan bis-akrilamid. Setelah itu ditambah dengan ammoniumpersulfat ke dalam campuran larutan yang telah terdapat sel *Streptomyces griseus* ATCC 10137 sebagai awal terbentuknya reaksi polimerisasi dan ditambahkan N,N,N',N'-tetrametil-etlendiamin (TEMED) untuk mempercepat reaksi, lalu dicampur sampai terbentuk gel. Kemudian didiamkan selama 10 menit pada suhu 4°C. Sel amobil dipotong kotak-kotak kecil dengan ukuran 3 mm³, lalu dicuci dengan buffer salin pH 7,4 berulang-ulang kali lalu disaring dengan corong Buchner. Pencucian diakhiri apabila hasil cucian tidak ada sel bebas dalam sel amobil dengan cara melihatnya dengan mikroskop, lalu dilakukan fermentasi.

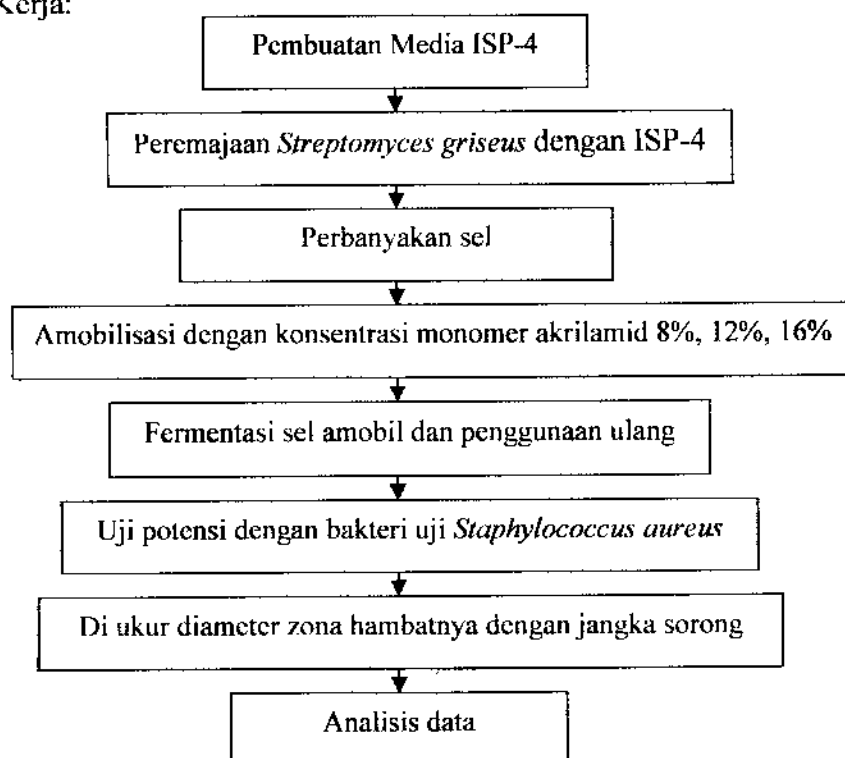
Fermentasi dilakukan dengan car sel amobil yang telah dibentuk kotak-kotak dipindahkan ke dalam 50 mL media produksi (ISP-4) dan diinkubasi pada

suhu 30°C selama 4 hari. Tiap hari diamati aktivitas antibiotikanya dengan mengambil sebanyak 100 μL dari media fermentasi (ISP-4). Setelah 4 hari media fermentasi dilakukan penggunaan ulang dengan dilakukan pencucian dengan buffer salin pH 7,4 dan disaring dengan corong Buchner. Filtrat yang didapat dimasukkan ke dalam media ISP-4 segar untuk dilakukan fermentasi dan diamati aktivitasnya, sedangkan residunya dibuang.

Metode pengukuran aktivitas dengan metode cetak lubang atau disebut juga metode sumuran. Pengukuran dilakukan dengan memasukkan 100 μL antibiotika yang dihasilkan oleh sel amobil pada waktu di fermentasi ke dalam media pembedihan bakteri uji yang sebelumnya telah dilubangi dan dimasukkan bakteri uji.

Variasi konsentrasi monomer yang digunakan adalah akrilamid dengan konsentrasi yang berbeda masing-masing yaitu 16 %, 12 %, dan 8 %, sedangkan bis-akrilamidnya tetap tidak berubah konsentrasinya, yaitu 0,7 %. Pelaksanaan pembuatan sama seperti proses amobilisasi sel.

Rancangan Kerja:



Gambar 4.1 Rancangan kerja

4.1 Bahan dan Alat Penelitian

4.1.1 Bahan

4.1.1 a. Mikroba Yang Digunakan

Mikroba yang digunakan untuk penelitian ini adalah *Streptomyces griseus* ATCC 10137 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi, Fakultas Teknik Kimia, Institut Teknologi Bandung. Sedangkan untuk mikroba uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga.

4.1.1 b. Bahan Untuk Media

Media International Streptomyces Project Medium 4 (ISP-4) menurut Atlas, 1946 (lampiran 1), Media Nutrient Agar/ NA (lampiran 2), dan larutan salin (larutan NaCl 0,9%).

4.1.1 b. Bahan Untuk Amobilisasi

Matriks poliakrilamid yang terdiri dari monomer akriamid dan bisakrilamid, dan ammonium persulfat sebagai inisiator diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga. Sedangkan sebagai katalisator kimia digunakan N,N,N',N'-tetrametil-etlendiamin (TEMED) yang diperoleh dari Laboratorium TDC, Fakultas MIPA, Universitas Airlangga.

4.1.2 Alat

Timbangan analitik, Ose, *Shaker*, Otoklaf, Jangka sorong, Pipet mikro, pH meter, Laminar Air Flow Cabinet, Vortex, dan alat-alat gelas.

4.2 Metodologi penelitian

4.2.1 Pembuatan Media

4.2.1 a. Media ISP-4

Semua komponen media ISP-4 ditimbang seksama, dan dilarutkan dengan menambahkan 950 ml aqua dalam Beker Gelas, selanjutnya dipanaskan di atas hot plate sambil diaduk dengan pengadukan yang konstan sampai semua bahan terlarut, diatur pada pH 7,2, kemudian ditambah aqua sampai volume 1 L dan disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit (Atlas, 1946).

4.2.1 b. Media Nutrien Agar

Ditimbang 2,8 gram Nutrient Agar, kemudian ditambahkan sekitar 950 mL air, lalu dipanaskan sambil daduk sampai larut dan ditambahkan air sampai 1 L, disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

4.2.2 Peremajaan Kultur

4.2.2 a. Peremajaan *Streptomyces griseus*

Streptomyces griseus ATCC 10137 dari kultur persediaan induk diperbanyak dengan cara diambil sebanyak satu Ose ditanam pada media ISP-4 segar, diinkubasi pada suhu 30°C. Inokulum setelah berumur 2-4 hari siap untuk diinokulasi.

4.2.2 b. Peremajaan Bakteri Uji (*Staphylococcus aureus*)

Staphylococcus aureus dari kultur persediaan induk diperbanyak dengan cara diambil satu goresan ditanam dalam media Nutrient Agar, diinkubasi pada suhu 30°C. Inokulum setelah berumur 2-4 hari siap untuk diinokulasi.

4.2.3 Pembuatan Sel Amobil

4.2.3 a. Penyiapan Inokulum

Streptomyces griseus ATCC 10137 yang telah dipanen sepanjang fase pertumbuhan dalam media ISP-4 segar ditambahkan 10 mL media ISP-4 cair steril, kemudian divortex. Spora yang terlepas dipindahkan ke labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi 50 mL media ISP-4 cair steril. Labu kemudian diinkubasi pada suhu 30°C dalam *shaker inkubator* 100 rpm selama 24 jam (sebagai stater).

4.2.3 b. Produksi Sel

Stater sebanyak 50 mL yang berusia 24 jam dipindahkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 100 ml ISP-4 cair yang steril. Labu diinkubasi pada suhu 30°C dalam *shaker inkubator* 100 rpm selama 24 jam. Setelah 24 jam, isi dalam labu Erlenmeyer dipindahkan ke dalam tabung-tabung yang telah ditara, lalu disentrifuse dengan kecepatan 3000 x g selama 15 menit untuk memisahkan sel dengan media, selanjutnya sel ditimbang.

4.2.3 c. 1 Amobilisasi Sel Dalam Poliakrilamid

Sebanyak 1 gram sel ditambahkan ke dalam 6 mL campuran larutan akrilamid 12 %, bisakrilamid 0.7 %, dan 50µL ammoniumpersulfat 10 % dan diaduk sampai homogen, terjadilah proses polimerisasi. Gel terbentuk jika didalam larutan tersebut ditambahkan 500µL TEMED, kemudian aduk tuang dengan cepat ke dalam cawan petri, tunggu beberapa detik kemudian terbentuklah gel. Sel amobil yang terbentuk dipotong kubus kecil-kecil diameter 3 mm³. Lalu dicuci dengan buffer salin pH 7,4 steril berulang-ulang kali lalu disaring dengan

menggunakan kertas saring. Pencucian diakhiri apabila hasil cucian telah bebas sel dengan cara melihatnya dengan mikroskop.

2. Variasi konsentrasi bahan amobil terhadap penggunaan ulang sel amobil

Variasi konsentrasi monomer yang digunakan adalah akrilamid dengan konsentrasi yang berbeda masing-masing yaitu 16 %, 12 %, dan 8 %, sedangkan bis-akrilamidnya tetap tidak berubah konsentrasinya, yaitu 0,7 %. Pelaksanaan pembuatannya dilakukan seperti pada 4.2.3.c.1

4.2.4 Fermentasi Sel Amobil

Sel amobil dalam bentuk kubus dipindahkan ke dalam 50 mL media produksi (ISP-4) ditanam pada suhu 30°C dan selama 4 hari. Setelah itu dilakukan uji aktivitas.

4.2.5 Penggunaan Kembali Sel Amobil

Salah satu keuntungan menggunakan amobilisasi sel adalah sel tersebut dapat digunakan berulang-ulang kali dan secara terus-menerus. Proses ini dilakukan dengan cara gel yang telah dipakai, dicuci dengan buffer salin pH 7,4. Lalu disuspensikan kembali dengan media ISP-4 segar seperti semula setelah kotak-kotak dipisahkan dari media sebelumnya dengan cara disentrifuse. Inkubasikan seperti perlakuan di atas. Pelaksanaannya, dilakukan sebanyak 5 kali.

4.2.6 Uji Potensi antibiotika

4.2.6 a. penyiapan Media Pembenuhan Bakteri Uji

Media dasar dan media inokulum yang digunakan pada penelitian ini merupakan modifikasi yang tertera pada Farmakope Indonesia edisi IV. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditumbuhkan pada media Nutrien Agar miring ditambahkan 10 ml Larutan buffer salin steril dan dikocok pelan supaya terlepas dari media. Lalu larutan dituang ke kuvet dan diukur transmitannya (T) pada λ 580 nm sebesar T=25%. Dituang 10 mL media Nutrient Agar ke dalam cawan dan dibiarkan memadat sebagai lapisan dasar dengan ketebalan seragam \pm 2 mm.

Sebanyak 7,5 μL inokulum yang memiliki T=25% dituang ke dalam 7,5 mL Nutrient Agar dikocok sampai homogen, lalu dituang ke dalam cawan yang berisi media dasar dan dibiarkan memadat, Lalu cawan ditutup dan dibungkus dengan untuk mencegah terjadinya kontaminasi.

4.2.6 b. Uji Potensi Untuk Fermentasi Dalam Media Padat

Setelah memadat, media yang terdapat dalam cawan dilubangi dengan tabung kaca sehingga terbentuk lubang/sumur. Diambil masing-masing 100 μL media hasil fermentasi dari tiap-tiap perlakuan, Lalu dimasukkan ke dalam lubang media pembenihan bakteri uji, lalu cawan ditutup. Biakan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam, diukur dan dicatat diameter zona hambatannya dengan jangka sorong.

4.2.6 c. Uji Statistika

Dari hasil pengukuran diameter zona hambatan dilakukan uji statistika dengan menggunakan rancangan analisis uji t sampel berpasangan (*Paired-Sample T Test*) dengan bantuan software statistik Statistical Product and Service Solution (SPSS).

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Penyiapan Media

Dibuat tiga macam media, yaitu media NA (*Nutrien Agar*) sebagai media pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media ISP-4 padat sebagai media pertumbuhan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 dan media ISP-4 cair sebagai media fermentasi.

Hasil penyiapan media NA diperoleh media padat berwarna kuning jernih, sedangkan hasil penyiapan media ISP-4 padat diperoleh media padat berwarna putih, dan hasil penyiapan media ISP-4 cair diperoleh suspensi media berwarna putih.

5.2 Pertumbuhan *Streptomyces griseus* ATCC 10137

Pertumbuhan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 dilakukan sesuai dengan prosedur 4.2.2.a. Berdasarkan pengamatan, pertumbuhan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 dalam media ISP-4 padat menampakkan koloni berwarna putih dan tidak berbau. Pertumbuhan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 pada media ISP-4 relatif cepat dengan ditunjukkan adanya pertumbuhan pada hari pertama walaupun masih sedikit. Pertumbuhan maksimal, baru dapat terlihat pada hari ketiga dan keempat.

5.3 Pertumbuhan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan sesuai prosedur 4.2.2.b. Berdasarkan hasil pengamatan, pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam media *Nutrien Agar* menampakkan koloni berwarna putih keabu-abuan dan nampak basah. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam media *Nutrien Agar* relatif cepat dengan ditunjukkan adanya pertumbuhan sudah dapat diamati pada hari pertama walaupun masih sedikit. Pertumbuhan yang maksimal, baru dapat terlihat pada hari kedua dan ketiga.

5.4 Perbanyakkan Sel

Perbanyakkan sel dilakukan sesuai dengan **prosedur 4.2.3.b**. Berdasarkan hasil pengamatan, perbanyakkan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 dalam media ISP-4 cair setelah 3-4 hari didapatkan bentuk suspensi berwarna putih.

5.5 Pengaruh Variasi Konsentrasi Monomer Akrilamid Dalam Gel

Poliakrilamid Pada Amobilisasi Sel

Amobilisasi sel untuk memproduksi antibiotika menggunakan matriks poliakrilamid. Proses polimerisasi poliakrilamid yang terjadi adalah akrilamid dan N,N"-metilenbisakrilamid. Poliakrilamid akan terjadi polimerisasi dengan penambahan ammonium persulfat, dan sebagai katalisator kimia digunakan N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED). Dalam penelitian ini digunakan variasi tiga konsentrasi monomer akrilamid 8%, 12%, dan 16%, dan monomer bis-akrilamidnya dengan konsentrasi tetap 0.7%. Variasi konsentrasi monomer akrilamid bertujuan untuk mengetahui konsentrasi monomer akrilamid yang menghasilkan aktivitas antibiotika paling besar.

Berdasarkan penelitian, dapat diketahui bahwa amobilisasi sel menggunakan matriks gel poliakrilamid menghasilkan gel yang berbentuk kotak-kotak dengan ukuran 3 mm³. Dengan konsentrasi monomer akrilamid yang berbeda akan didapatkan konsistensi gel yang berbeda pula, dimana dengan penambahan konsentrasi monomer akrilamid gel akan semakin keras dan kuat.

Gambar-gambar fisik hasil amobilisasi sel menggunakan matriks gel poliakrilamid diperlihatkan dalam **lampiran 6**.

5.6 Fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 Amobil

Fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dilakukan dengan memasukkan sel dalam matriks gel poliakrilamid dengan variasi konsentrasi monomer akrilamid 8%, 12%, 16% dan konsentrasi monomer bis-akrilamid tetap 0,7%, kemudian masing-masing gel dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 50 mL media ISP-4 cair steril dan kemudian dilakukan inkubasi dalam shaker inkubator pada suhu 30°C dengan kecepatan 100 rpm selama 96 jam. Hasilnya, pada hari pertama media fermentasi dengan sel amobil masih berupa

suspensi yang berwarna putih, tetapi pada hari kedua sampai hari keempat berubah warna menjadi putih keruh.

5.7 Uji Daya Hambat Antibiotika Hasil Fermentasi Sel Amobil

Uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dilakukan setiap 24 jam selama 20 hari berturut-turut (dengan penggantian media fermentasi setiap 96 jam), pengambilan larutan uji fermentasi sebanyak 100 μ L, kemudian diukur diameter zona hambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji yang berupa daerah jernih di sekitar lubang sumur agar mengandung biakan *Streptomyces griseus* ATCC 10137. Penggunaan pertama, adalah hasil fermentasi 96 jam pertama, dinyatakan sebagai hari 1-4, kemudian dilakukan pergantian media fermentasi, yaitu ISP-4 cair steril baru dan difermentasi ulang selama 96 jam, dinyatakan sebagai hari 5-8. Begitu seterusnya sampai dicapai lima kali penggunaan ulang. Hasil pengukuran disajikan dalam tabel 5.1 pada lampiran 4.

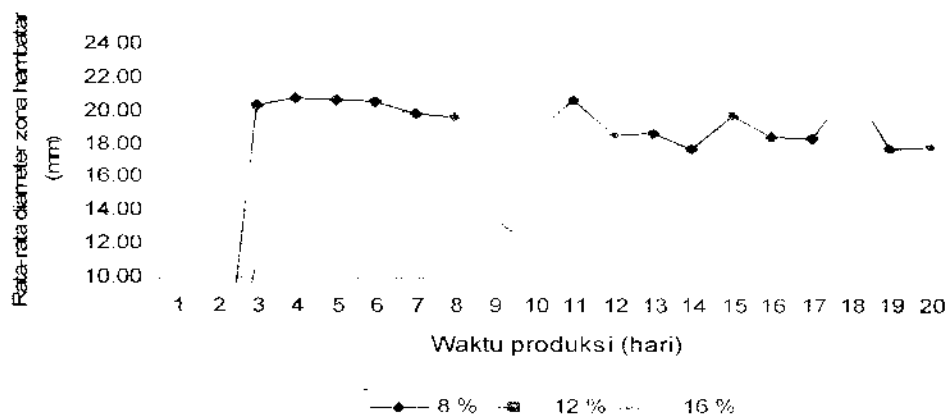
Berdasarkan tabel 5.1 pada lampiran 4 dapat dilihat bahwa sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, 12 %, dan 16 % pada hari pertama sampai hari kedua belum terbentuk diameter zona hambatan terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, artinya fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada hari pertama sampai hari kedua menghasilkan antibiotika dalam jumlah masih sedikit sehingga belum dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji atau belum menghasilkan antibiotika. Diameter zona hambatan baru terbentuk pada hari ketiga, artinya pada hari ketiga fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.

5.8 Profil Kurva Antibiotika Hasil Uji Daya Hambatan

Profil kurva diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada berbagai konsentrasi monomer akrilamid terhadap pertumbuhan mikroba uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 disajikan pada gambar 5.1.

Berdasarkan profil kurva pada **gambar 5.1** dapat dilihat bahwa untuk sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, 12 %, 16 % pada hari pertama sampai hari kedua belum menunjukkan adanya diameter zona hambatan. Artinya, fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada hari pertama sampai hari kedua menghasilkan antibiotika dalam jumlah masih sedikit sehingga belum dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji atau belum menghasilkan antibiotika. Diameter zona hambatan baru terbentuk pada hari ketiga dan diameter yang paling besar pada hari tersebut adalah sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, baru kemudian konsentrasi monomer akrilamid 12 %, dan yang paling kecil konsentrasi monomer akrilamid 16 % artinya pada hari ketiga fermentasi sel amobil baru mampu menghasilkan antibiotika dan aktivitas paling tinggi pada hari tersebut adalah sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, kemudian 12 %, dan paling kecil 16 %.

Jika dibandingkan berdasarkan **gambar 5.1**, diameter zona hambatan yang paling besar selama waktu produksi sampai 20 hari atau lima kali penggunaan ulang adalah dihasilkan oleh sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 12 %, kemudian sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, dan yang paling kecil yaitu sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 16 %. Artinya, pada hari ke-16 sel amobil dengan konsentrasi 12 % menghasilkan antibiotika dengan aktivitas paling besar dibanding sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, dan 16 %. Sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 % menghasilkan antibiotika dengan aktivitas paling besar selama waktu produksi pada hari ke-18, sedangkan sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 16 % menghasilkan antibiotika dengan aktivitas paling besar selama waktu produksinya pada hari ke-12.



Gambar 5.1 Profil diameter zona hambatan hasil uji daya hambatan antibiotika terhadap mikroba uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

5.9 Penggunaan Ulang Sel Amobil

Penggunaan ulang sel amobil dilakukan sesuai dengan prosedur 4.2.5. Dalam pelaksanaan penggunaan ulang sel amobil, dilakukan penggantian media fermentasi tiap 96 jam. Hasilnya, pada hari pertama penggunaan, media masih berupa suspensi berwarna putih, tetapi dari hari ke hari warnanya berangsur-angsur berubah menjadi lebih keruh dan berwarna kekuningan. Hal ini dapat teramati pada hari ketiga dan keempat fermentasi.

Profil kurva pada gambar 5.2 dapat dilihat bahwa aktivitas antibiotika yang dihasilkan tidak teratur, hal ini disebabkan oleh adanya gel yang pecah pada waktu difermentasi sehingga sel yang terjebak dalam gel keluar ke media fermentasi, akibatnya aktivitas antibiotika meningkat. Setelah difermentasi selama 96 jam dilakukan penucucian gel dan penggantian media fermentasi. setelah itu gel di fermentasi kembali sehingga aktivitas antibiotika yang dihasilkan menurun.

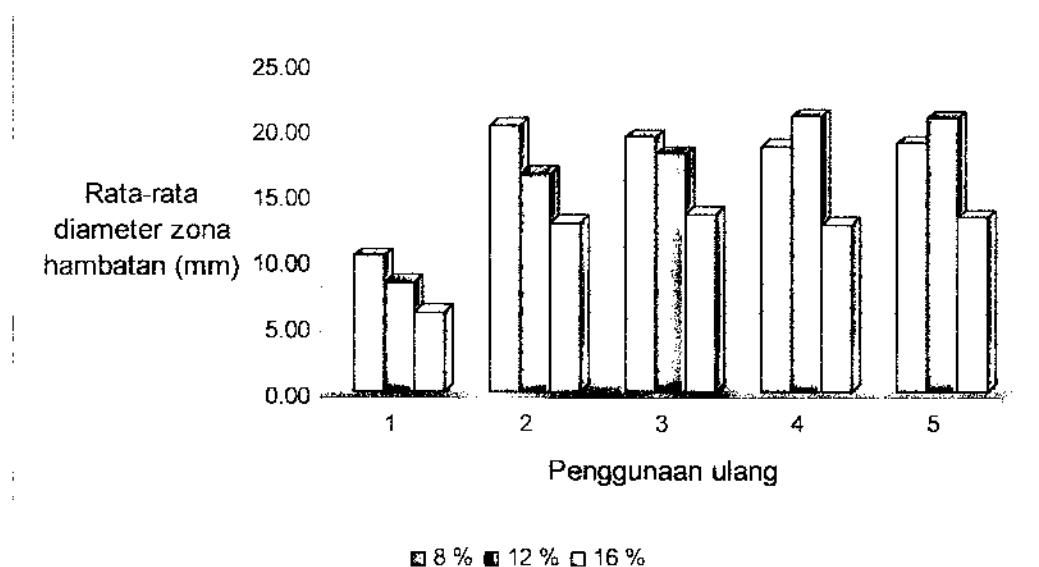
Berdasarkan pengamatan, dapat dilihat bahwa gel yang berbentuk kubus masih terlihat utuh hanya sedikit kubus gel yang hilang mulai dilakukan penggunaan ulang pertama sampai terakhir, yaitu penggunaan kelima. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi monomer akrilamid dalam pembentukan gel poliakrilamid yang digunakan relatif kuat sampai dengan penggunaan ulang kelima dan disamping itu berdasarkan gambar 5.2 aktivitas antibiotika yang dihasilkan masih dalam jumlah yang besar.

Hasil pengamatan diameter zona hambatan antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan variasi konsentrasi monomer akrilamid sebesar 8 %, 12 %, 16 % pada lima kali penggunaan ulang disajikan dalam tabel 5.2

Tabel 5.2 Data pengamatan diameter zona hambatan antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan variasi monomer akrilamid sebesar 8 %, 12 %, 16 % pada lima kali penggunaan ulang.

Penggunaan Ulang ke-	Diameter zona hambatan (mm)		
	8 %	12 %	16 %
1	10.29	8.25	5.98
2	20.23	16.54	12.78
3	19.38	18.12	13.46
4	18.70	20.98	12.66
5	18.91	20.83	13.24

Keterangan : data yang diambil berdasarkan rata-rata diameter zona hambatan setiap kali penggunaan ulang.



Gambar 5.2 Profil pengaruh penggunaan ulang sel amobil terhadap diameter zona hambatan hasil uji daya hambatan antibiotika

5.10 Analisis Data

Berdasarkan analisis data dengan menggunakan metode statistik uji t sampel berpasangan (*Paired-Sample T Test*) dengan variabel pertama dan kedua adalah diameter zona hambatan hasil uji daya hambatan antibiotika dengan variasi konsentrasi monomer akrilamid 8 %, 12 %, 16 %. Hasil yang diperoleh adalah perbandingan konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 12 % dengan derajat kepercayaan 95 % harga P hitung 0.382 ($P \text{ hitung} > 0.05$), artinya perbandingan kedua konsentrasi tersebut tidak menunjukkan perbedaan secara bermakna. Sedangkan perbandingan konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 %, 12 % dan 16 % harga P hitungnya sama yaitu P hitung 0.000 ($P \text{ hitung} < 0.05$), artinya perbandingan kedua konsentrasi tersebut menunjukkan perbedaan secara bermakna dan dalam penelitian, perlakuan antar kelompok dilakukan dengan teliti.

BAB VI

PEMBAHASAN

Genus *Streptomyces* mempunyai beberapa jenis dan galur yang paling sering digunakan oleh manusia, karena menghasilkan antibiotika terutama jenis aminoglikosida. Dalam penelitian ini digunakan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 untuk memproduksi antibiotika, dan untuk meningkatkan produksinya, digunakan metode amobilisasi sel menggunakan matriks poliakrilamid.

Proses polimerisasi poliakrilamid yang terjadi adalah akrilamid dan N,N'-metilenbisakrilamid. Poliakrilamid akan terjadi polimerisasi dengan penambahan ammonium persulfat, dan sebagai katalisator kimia digunakan N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED). Dalam penelitian ini digunakan variasi tiga konsentrasi monomer akrilamid 8%, 12%, dan 16%, dan monomer bis-akrilamidnya dengan konsentrasi tetap 0,7%. Penggunaan variasi tiga konsentrasi akrilamid dan bis-akrilamidnya tetap, hasil yang didapatkan dengan penambahan konsentrasi monomer akrilamid gel akan semakin keras dan kuat.

Uji daya hambat antibiotika dilakukan untuk mengetahui aktivitas daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan konsentrasi 8%, 12%, 16% terhadap pertumbuhan mikroba uji Gram positif yang dalam penelitian ini diwakili oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pengujian dilakukan selama 20 hari berturut-turut menunjukkan hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 dapat menghambat pertumbuhan mikroba uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditunjukkan terbentuknya daerah (zona) jernih di daerah sekitar lubang sumur agar yang mengandung biakan *Streptomyces griseus* ATCC 10137.

Berdasarkan profil kurva zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika terhadap pertumbuhan mikroba uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 seperti pada gambar 5.2 diketahui bahwa sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 12 % menghasilkan diameter zona hambatan yang relatif lebih besar bila dibandingkan dengan diameter zona hambatan yang dihasilkan sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 %. Hasil ini mengindikasikan bahwa untuk memproduksi antibiotika dengan metode amobilisasi sel, konsentrasi

monomer akrilamid memegang peran penting. Hasil ini juga menunjukkan bahwa belum tentu dengan konsentrasi monomer akrilamid besar menghasilkan aktivitas yang besar, melainkan dengan konsentrasi monomer akrilamid tertentu dapat menghasilkan konsentrasi yang besar. Hal ini dipengaruhi oleh terbatasnya persediaan nutrisi dan persebaran oksigen. Hal ini sesuai dengan yang dilaporkan Morikawa *et.al.*, (1978) yang melakukan penelitian amobilisasi sel menggunakan *Basillus sp* penghasil antibiotika basitrasin dalam matriks gel poliakrilamid.

Dalam penelitian ini dapat diketahui bahwa waktu fermentasi untuk memproduksi antibiotika dari *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil mempunyai perbedaan. Hari pertama fermentasi sel amobil ketiga konsentrasi monomer akrilamid yaitu 8 %, 12 %, 16 % antibiotika belum diproduksi. Ketiga konsentrasi tersebut baru memproduksi antibiotika pada hari ketiga. Hasilnya pada hari ketiga, pada konsentrasi monomer akrilamid 8 % aktivitas antibiotikanya relatif lebih besar dibanding konsentrasi 12 % dan 16 %. Perbedaan ini disebabkan oleh sel yang berada dalam gel masih mengalami pertumbuhan. Meskipun sebenarnya pada penggunaan sel amobil untuk fermentasi pertumbuhan sel tidak dikehendaki, namun diperkirakan pada awal fermentasi masih terjadi pertumbuhan selnya. Hal yang menyebabkan terjadinya pertumbuhan sel adalah belum optimalnya jumlah sel dalam matriks poliakrilamid. Hal ini dapat terjadi karena tidak dilakukannya optimasi jumlah sel yang digunakan untuk proses amobil, dimana dalam penelitian ini langsung dilakukan amobilisasi sebanyak 1 gram sel dalam matriks poliakrilamid. Kemungkinan, jumlah sel belum optimal sehingga masih terjadi pertumbuhan dalam gel yang berbentuk kotak-kotak. Penyebab lain adalah terjadinya pertumbuhan sel yang ada pada permukaan gel. Semakin kecil konsentrasi monomer akrilamid, maka kisi-kisi gel semakin besar kemungkinan sel yang terjebak bisa keluar (terjadi kebocoran gel). Untuk meminimalisasi pertumbuhan sel yang ada pada permukaan maka setiap kali dilakukan penggantian media fermentasi, dilakukan pencucian gel dengan larutan salin steril sebanyak tiga kali atau lebih, setelah itu gel dilihat dengan menggunakan mikroskop.

Stabilitas sel amobil dalam memproduksi antibiotika dapat diketahui dengan dilakukannya penggunaan ulang sebanyak lima kali. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada **gambar 5.2**. Dari hasil tersebut tampak jelas bahwa pada konsentrasi monomer akrilamid 12 % menunjukkan grafik produksi antibiotika secara perlahan-lahan meningkat pada setiap kali penggunaan ulang, sedangkan konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 % hasil memang terjadi peningkatan, tapi peningkatannya turun-naik-turun tidak teratur. Hal ini disebabkan sel yang berada dalam gel menerima nutrisi dan oksigen secara minimal, sehingga pada awal penggunaan ulang sel nutrisi digunakan untuk pertumbuhannya. Karena sel mengalami pertumbuhan dalam matriksnya, maka secara perlahan-lahan pula terjadi peningkatan densitas sel. Pada saat densitas sel maksimum, maka pertumbuhan sel terhenti, sehingga sel memanfaatkan nutrisi yang ada untuk menghasilkan antibiotika. Sehingga tampak pada **gambar 5.2** bahwa sampai lima kali penggunaan ulang, sel amobil dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, 12 %, 16 % masih mengalami peningkatan antibiotika yang cukup signifikan. Sedangkan peningkatan antibiotika yang turun-naik-turun tidak teratur yang dialami pada konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 % disebabkan oleh adanya gel yang rusak pada waktu difermentasi sehingga sel yang terjebak dalam gel keluar ke media fermentasi, akibatnya aktivitas antibiotika meningkat. Setelah difermentasi selama 96 jam dilakukan penucucian gel dan penggantian media fermentasi, setelah itu gel di fermentasi kembali sehingga aktivitas antibiotika yang dihasilkan menurun.

Peningkatan produksi antibiotika pada penggunaan ulang dapat diindikasikan bahwa sel amobil masih stabil. Hal ini tampak pada penggunaan ulang kelima, aktivitas antibiotika yang diproduksi oleh sel amobil masih mengalami peningkatan. Hal ini menunjukkan bahwa sampai dengan penggunaan ulang kelima sel amobil dalam matriks poliakrilamid dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 %, 12 %, 16 % dan konsentrasi monomer bisakrilamid 0,7 % masih stabil. Artinya, sel yang berada di dalam gel yang berbentuk kubus masih bertahan hidup dan mampu menghasilkan antibiotika untuk digunakan sampai lima kali penggunaan ulang.

Uji statistika dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna pengaruh variasi konsentrasi monomer akrilamid terhadap aktivitas antibiotika yang dihasilkan sel amobil digunakan metode uji t sampel berpasangan (*Paired-Samples T Test*). Berpasangan artinya, dilakukan dengan cara membandingkan rata-rata diameter zona hambatan masing-masing konsentrasi setiap harinya selama waktu produksi antibiotika dimulai pada hari ketiga pada variasi konsentrasi monomer akrilamid, karena pada hari ketiga mulai adanya perbedaan diameter zona hambatan. Hasil uji statistika yang dilakukan dengan derajat kepercayaan 95 %, pada konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 %, dan 12 % dan 16 % diperoleh harga P hitung yang sama sebesar 0.000 (P hitung < 0.05). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan, dan disamping itu harga P hitung < 0.01 menunjukkan dalam memberikan perlakuan antar kelompok dilakukan dengan teliti. Sedangkan untuk konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 12 % dengan derajat kepercayaan 95 % diperoleh harga P hitung 0.382, sehingga P hitung > 0.05 . Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 12 % tidak memberikan perbedaan secara bermakna. Hal ini sesuai dengan penjelasan diatas bahwa besarnya konsentrasi monomer akrilamid berpengaruh pada amobilisasi sel dalam memproduksi antibiotika, karena terkait dengan persebaran oksigen dan persediaan nutrien dalam kisi-kisi matriks gel poliakrilamid.

Penelitian ini menguji adanya perbedaan aktivitas antibiotika yang dihasilkan *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan variasi konsentrasi monomer akrilamid 8 %, 12 %, dan 16 % dan monomer bisakrilamidnya tetap 0.7 %.

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

7.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Ada perbedaan aktivitas antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 16 %, 12% dan 16% pada lima kali penggunaan ulang. Sedangkan konsentrasi monomer akrilamid 8 % dan 12 % tidak ada perbedaan aktivitas antibiotika pada lima kali penggunaan ulang (pada uji statistik dengan derajat kepercayaan 95 %).
2. Konsentrasi monomer akrilamid yang paling besar untuk memproduksi antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 dengan metode amobilisasi sel adalah sebesar 12 %

7.2. Saran

Penelitian ini menguji aktivitas antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil, untuk itu penelitian selanjutnya disarankan :

1. Untuk menghasilkan antibiotika dalam jumlah besar hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid digunakan monomer akrilamid sebesar 12 %.
2. Perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut lebih dari 20 hari sampai sel amobil tersebut tidak mampu lagi menghasilkan antibiotika.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. Streptomyces. (<http://www.micro.msb.le.ac.uk/video/Streptomyces.html>, diakses 03 Agustus 2005)
- Anonim., 1995. **Farmakope Indonesia**. Edisi IV, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal. 891
- Atlas, R. M., 1946. **Handbook of Microbiological Media**. Second Ed, USA : Macmillan Publishing Company, pp 702-704
- Chibata, I., 1978. **Immobilized Enzymes Research and Development**. Kondansha LTD, Tokyo, John Wiley and Sons, New York, p. 16-15, 73-79
- Chibata, I., Tosa, T., and Sato, T., 1974. Immobilized Aspartase Containing Microbial Cells : **Preparation and Enzymatic Properties**. 27(5): 878-885
- Chibata, I., Tosa, T., and Sato, T., 1986. Methods of cell immobilization In : **Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology** edited by Demain, A.L., and Solomon, N.A., Washington, DC.: American Society for Microbiology, p. 217-229
- Fardiaz, S., 1988. **Fisiologi Fermentasi**. Bogor : Pusat Antar Universitas Institut Pertanian Bogor, hal. 15-16, 145-148
- Fardiaz, S., 1992. **Mikrobiologi Pangan 1**. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama, hal. 98-101
- Ganiswara, S.G., 1995. **Farmakologi dan Terapi**. Edisi 4, Jakarta : Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal. 661-674
- Guoqiang, D., Kaul, R., and Mattiasson, B., 1992. Immobilization of *Lactobacillus casei* cells to ceramics material pretreated with polyethylenimin. **Appl. Microbiol and Biotechnol.**, 37(3): 305- 310
- Isnaeni, 1998. **Mutasintesis Antibiotika Mutan *Streptomyces griseus* ATCC 10137**. Bandung, Disertasi ITB, hal.43-45
- Jawetz, E., 1984. **Terjemahan Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan**. Edisi 16, Jakarta : ECG Penerbit Buku Kedokteran, hal. 98-106
- Jawetz, Melnick., and Adelberg's., 2001. **Terjemahan Mikrobiologi Kedokteran**. Edisi Pertama, Jakarta : Salemba Medika, Hal 69

- Morikawa, Y., Ochiai, A., Karube, I., and Shuichi Suzuki, 1979. Bacitracin Production by Whole Cells Immobilized in Polyacrilamide Gel. **Anti Microbial Agent And Chemotherapy**, 15(1): 126-130
- National Diagnostics, 2005. **The Polymerization of Polyacrylamide Matrix with Methylenbisaerylamide Cross-linking**. (<http://nasionaldiagnostic.Com/articles/id/6>, diakses 25 Januari 2006)
- Nevodic, A. V., Cukavolik, I.L., and Novacovik G.V., 2006. **Immobilized Cells Technology (ICT) in Beer Fermentation? A Possibility For Environmentally Sustainable And Cost-Effective Proces**. (<http://www.rcub.bg.ac.yu/todorom/tutorials/rad15.html>, diakses 25 Januari 2006)
- Pelczar, M., 1986. **Dasar-dasar Mikrobiologi**. alih bahasa : Ratna Siri. Jilid 2, Jakarta : Universitas Indonesia Press, hal. 134-145, 152-155
- Peter, B., and Erick, J.V., 1987. Immobilized Cells System. In : **Biotechnology, Enzyme Technology** edited by Rehm, H.J and Reed, G., New York, Weinheim, 7a : 407-485
- Ramakrishna, V.S., and Prakasham, S.R., 1999. Microbial Fermentations with Immobilized Cells. **Curr. Sci.**, 77: 87-100
- Reynolds, M., D., and Waksman, S., A., 1948. Grisein, An Antibiotic Produced by Strain of *Streptomyces Griseus*. **Agricultural Experiment Station**, 55: 739-752
- Schlegel, H.G., and Schmidt, K., 1994. **Terjemahan Mikrobiologi Umum**. Edisi VI, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal 203-226, 238-245
- Shirato, S., and Motoyama, H., 1966. Fermentation Studies with *Streptomyces griseus*, II. Synthetic Media for the Production of Streptomycin. **Applied and Environmental Microbiology**, 14(5): 706-710
- Tjitrosoepomo, G., 2003. **Taksonomi Tumbuhan**. Cetakan ke-6, Yogyakarta: Gadjah Mada University Press, hal.3-11, 20-22

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1**Komposisi media ISP-4 Padat**

Agar	18 gram
Amilum	10 gram
CaCO ₃	2 gram
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 gram
K ₂ HPO ₄	1 gram
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 gram
NaCl	1 gram
Larutan mikroelemen	1 mL
Aqua ad	1000 mL

Larutan mikroelemen terdiri dari:

FeSO ₄ .7H ₂ O	1 gram/liter
MnCl ₂ .7H ₂ O	1 gram/liter
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1 gram/liter
Aqua ad	1000 mL

pH 7,2 ± 0,2 pada suhu 25°C (Atlas, 1946)

LAMPIRAN 2**Komposisi ISP-4 Cair**

Amilum	10 gram
CaCO ₃	2 gram
(NH ₄) ₂ SO ₄	2 gram
K ₂ HPO ₄	1 gram
MgSO ₄ .7H ₂ O	1 gram
NaCl	1 gram
Larutan mikroelemen	1 mL
Aqua ad	1000 mL

Larutan mikroelemen terdiri dari:

FeSO ₄ .7H ₂ O	1 gram/liter
MnCl ₂ .7H ₂ O	1 gram/liter
ZnSO ₄ .7H ₂ O	1 gram/liter
Aqua ad	1000 mL

pH 7,2 ± 0,2 pada suhu 25°C (Atlas, 1946)

LAMPIRAN 3**Komposisi Media Nutrien Agar**

<i>Beef extract</i>	3 g
Pepton	5 g
Agar	15 g
Air hingga	1000 ml.
pH 7,4 ± 0,1	

LAMPIRAN 4

Tabel 5.1 Data pengamatan diameter zona hambatan antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil dalam matriks poliakrilamid dengan variasi konsentrasi monomer akrilamid sebesar 8 %, 12 %, 16 %.

Konsentrasi Monomer Akrilamid	Penggunaan Ulang Ke	Hari Biakan	Diameter Zona Hambatan (mm)								Rata-rata	Standart Deviasi
			Replikasi 1				Replikasi 2					
			Pengamatan				Pengamatan					
			1	2	3	Rata-rata	1	2	3	Rata-rata		
8%	1	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		3	20.84	20.90	18.64	20.13	21.00	21	19.82	20.61	20.37	0.34
		4	20.92	24.90	18.24	21.35	21.64	20.7	18.4	20.24	20.80	0.79
	2	5	22.36	19.12	20.10	20.53	21.54	21.5	19.94	20.99	20.76	0.33
		6	23.80	21.80	19.18	21.59	23.82	17.30	17.46	19.53	20.56	1.46
		7	19.94	21.00	15.62	18.85	21.86	20.70	20.28	20.95	19.90	1.48
		8	18.20	18.70	20.50	19.13	18	21.30	21.40	20.23	19.68	0.78
	3	9	18.26	20.78	22.6	20.55	17.16	19.6	18.38	18.39	19.47	1.53
		10	18.16	18.32	19.00	18.49	17.6	20.00	19.3	18.97	18.73	0.33
		11	18.30	21.40	16.74	18.81	27.50	18.6	21.6	22.58	20.70	2.66
		12	22.50	17.46	18.54	19.50	12.85	19.96	20.4	17.74	18.62	1.25
	4	13	21.60	24.6	14.40	20.20	12.90	18.20	20.60	17.23	18.72	2.10
		14	20.68	19.32	16.50	18.83	11.73	18.9	19.38	16.67	17.75	1.53
		15	20.84	18.42	15.7	18.33	20.40	22.7	20.8	21.29	19.81	2.09
		16	17.22	18.80	16.2	17.42	21.32	17.58	19.96	19.62	18.52	1.56
	5	17	20.60	16.51	19.11	18.74	16.21	17.60	20.40	18.07	18.41	0.47
		18	24.48	24.70	18.6	22.61	20.80	21.68	19.12	20.53	21.57	1.47
		19	18.24	17.7	17.80	17.91	15.50	20.2	17.32	17.66	17.79	0.18
		20	17.84	19.82	14.3	17.33	17.40	17.8	20.14	18.45	17.89	0.79

Lanjutan tabel 5.1

Konsentrasi Monomer Akrilamid	Penggunaan Ulang Ke	Hari Biakan	Diameter Zona Hambatan (mm)								Rata-rata	Standart Deviasi
			Replikasi 1				Replikasi 2					
			Pengamatan				Pengamatan					
			1	2	3	Rata-rata	1	2	3	Rata-rata		
12%	1	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		3	16.8	16.8	16.9	16.83	16.00	16.4	16.14	16.18	16.51	0.46
		4	16.30	16.30	16.36	16.32	16.84	16.6	16.58	16.67	16.49	0.25
	2	5	16.52	16.38	16.90	16.60	16.56	16.6	16.54	16.57	16.59	0.02
		6	16.18	16.80	16.2	16.40	16.84	16	16.12	16.32	16.36	0.06
		7	16.48	16.60	16.60	16.56	16.60	16.4	16.49	16.49	16.53	0.05
		8	16.82	16.84	17.2	16.97	16.58	16.10	16.48	16.39	16.68	0.41
	3	9	17.12	17.54	17.58	17.41	17.7	17.5	17.18	17.46	17.44	0.03
		10	17.36	17.74	17.90	17.67	17.46	17.10	17.68	17.41	17.54	0.18
		11	18.50	18.72	18.60	18.61	18.50	18.2	18.18	18.29	18.45	0.22
		12	18.41	18.41	18.6	18.49	19.82	19.8	19.14	19.60	19.04	0.79
	4	13	19.64	19.42	19.4	19.49	19.68	19.52	20.60	19.93	19.71	0.31
		14	20.40	22.66	20.8	21.29	20.80	21.68	20.4	20.96	21.12	0.23
		15	20.78	22.62	20.50	21.30	20.50	21.5	20.60	20.87	21.08	0.31
		16	20.70	20.28	21.30	20.76	24.48	24.70	20.6	23.28	22.01	1.77
	5	17	21.30	21.40	19.6	20.77	22.36	19.12	20.1	20.53	20.65	0.17
		18	20.68	18.4	20.00	19.69	23.80	21.80	19.18	21.59	20.64	1.34
		19	21.48	19.94	20.40	20.61	21.32	17.58	19.96	19.62	20.11	0.70
		20	22.66	20.8	21.72	21.73	21	21.5	23.9	22.13	21.93	0.29
16%	1	1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
		2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
		3	10.58	8.70	10.24	9.84	14.40	10.10	12.56	12.35	11.10	1.78
		4	12.3	13.34	11.40	12.35	12.20	13.00	14.8	13.33	12.84	0.70
	2	5	12.62	14.98	11.46	13.02	10.2	11.9	13.78	11.97	12.50	0.74
		6	12.42	11.38	11.3	11.89	17.84	12.5	14.10	14.80	13.25	2.20
		7	9.9	13.44	13.3	12.21	14.72	13.4	12	13.36	12.79	0.81
		8	14.42	9.10	12.9	12.14	12.0	13.60	13.50	13.03	12.59	0.83
	3	9	13.10	15.28	12.6	13.67	14.40	13.30	13.34	13.68	13.68	0.00
		10	13.00	11.6	13.70	12.77	8.00	13.6	9.68	10.43	11.60	1.65
		11	14.2	13.84	14.5	14.19	13.00	12.5	13.1	12.85	13.52	0.94
		12	25.12	14.00	12.4	17.17	11.58	14.2	12.92	12.90	15.04	3.02
	4	13	14.9	14.38	8.40	12.56	13	13.20	9.00	11.73	12.15	0.58
		14	12.56	14.42	14.2	13.73	10.38	13.8	12.60	12.26	12.99	1.04
		15	12.80	14.4	13.2	13.47	14.72	12.10	15	13.94	13.70	0.33
		16	14.92	12.56	13.5	13.66	10.4	9.33	10.00	9.91	11.79	2.65
	5	17	14.60	14.70	13.00	14.10	9.10	11.3	10.5	10.29	12.20	2.69
		18	13	14.80	12.6	13.47	11.42	14.5	13.26	13.07	13.27	0.28
		19	13.58	14.28	14.20	14.02	14.68	14.96	12.63	14.09	14.06	0.05
		20	14.3	15	13.68	14.33	12.3	12.1	13.20	12.54	13.43	1.26

LAMPIRAN 5

Hasil uji t dua sampel berpasangan (*Paired-Sample T Test*)

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	konst8	19.4472	18	1.18384	.27903
	Konst12	18.8267	18	2.09627	.49410

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	konst8 & Konst12	18	-.568	.014

Paired Samples Test

		Paired Differences				t	df	Sig. (2-tailed)	
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	95% Confidence Interval of the Difference				
					Lower				Upper
Pair 1	konst8 - Konst12	.62056	2.93480	.69174	-.83889	2.08000	.897	17	.382

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Konst12	18.8267	18	2.09627	.49410
	Konst16	12.9167	18	.95756	.22570

Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	Konst12 & Konst16	18	.188	.455

Paired Samples Test

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	Konst12 - Konst16	5.91000	2.13462	.50313	4.84848	6.97152	11.746	17	.000

T-Test

Paired Samples Statistics

		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	konst8	19.4472	18	1.18384	.27903
	Konst16	12.9167	18	.95756	.22570

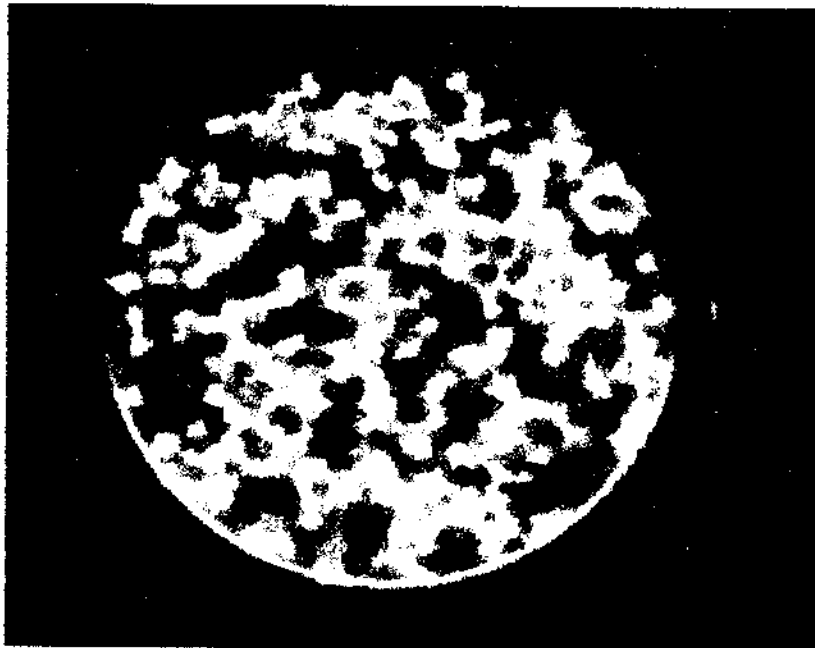
Paired Samples Correlations

		N	Correlation	Sig.
Pair 1	konst8 & Konst16	18	-.081	.748

Paired Samples Test

		Paired Differences			95% Confidence Interval of the Difference		t	df	Sig. (2-tailed)
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	konst8 - Konst16	6.53056	1.58202	.37289	5.74383	7.31728	17.514	17	.000

LAMPIRAN 6



Gambar kubus gel hasil amobilisasi sel *Streptomyces griseus* dalam matrik poliakrilamid

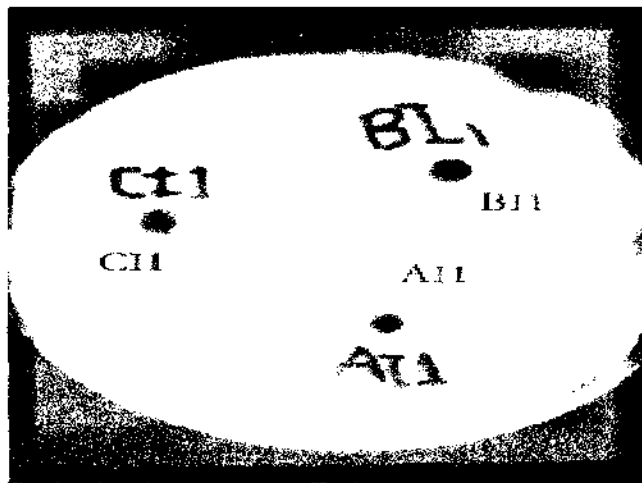
LAMPIRAN 7

Gambar matrik penjebak (poliakrilamid) dengan mikroskop perbesaran 100x

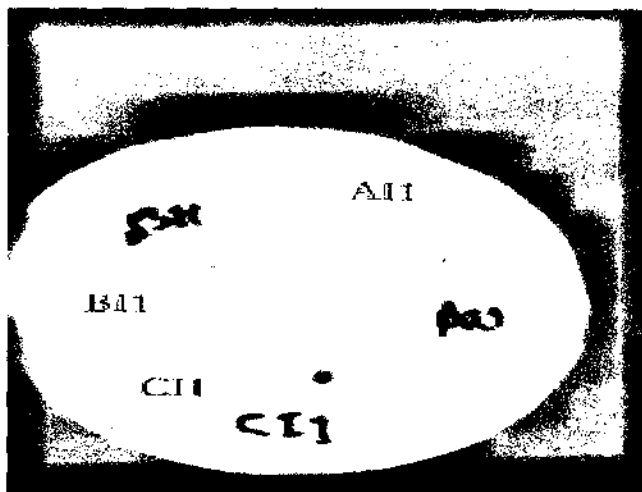


Gambar sel yang terjebak dalam matriks poliakrilamid dilihat dengan mikroskop dengan perbesaran 100x

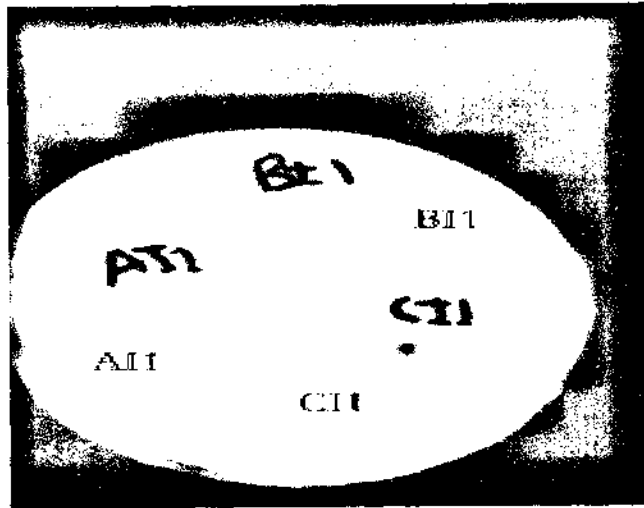
LAMPIRAN 8



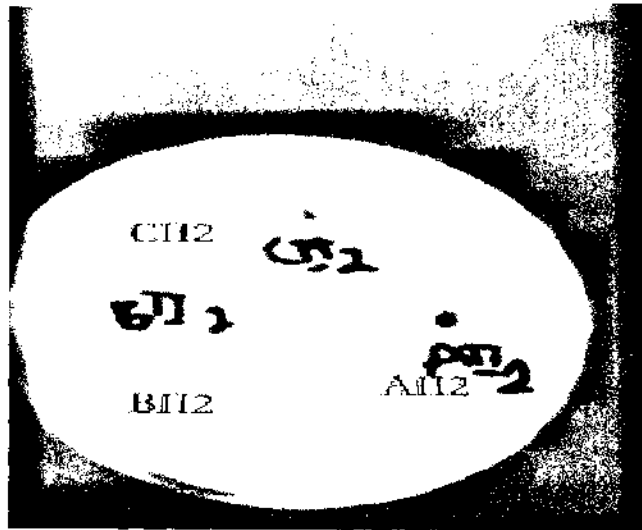
Gambar diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada hari ke-1



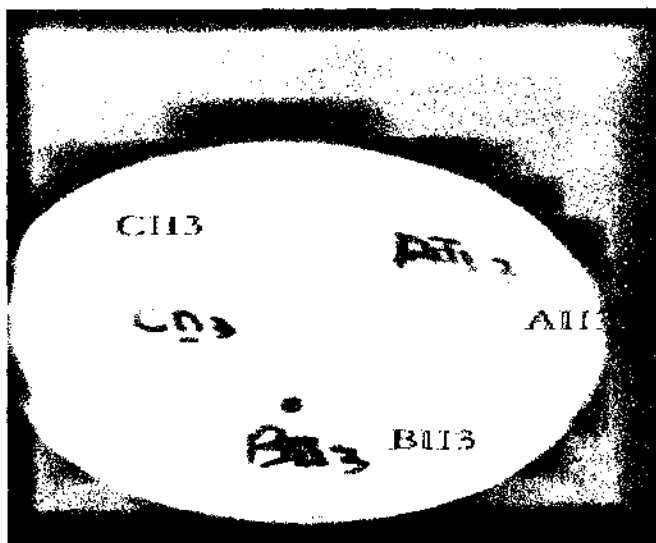
Gambar diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada hari ke-6



Gambar diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada hari ke-12



Gambar diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada hari ke-15

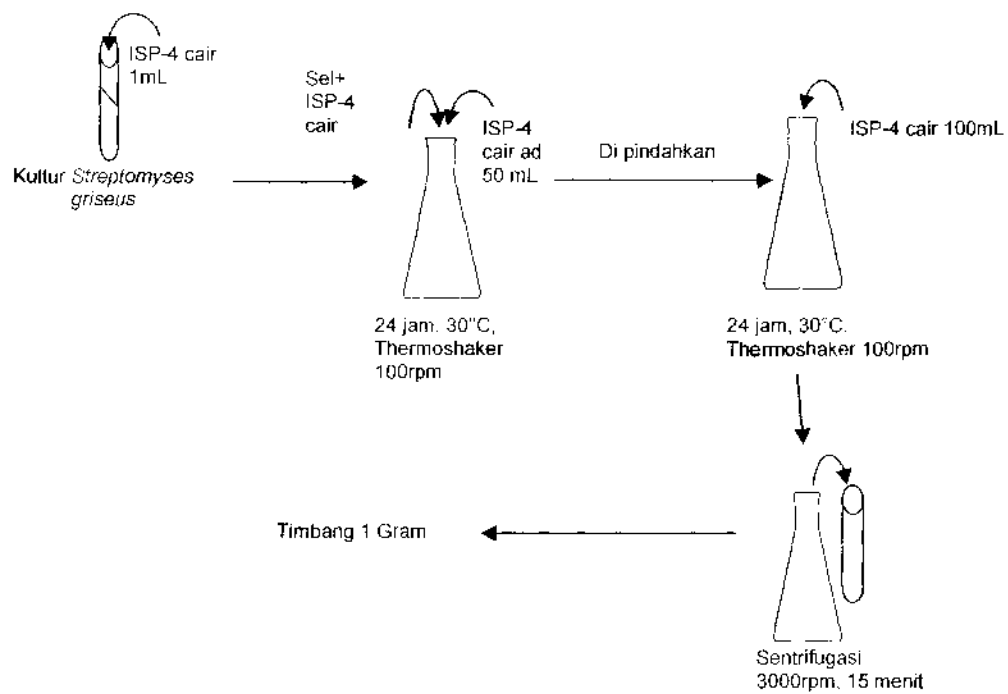


Gambar diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 amobil pada hari ke-20

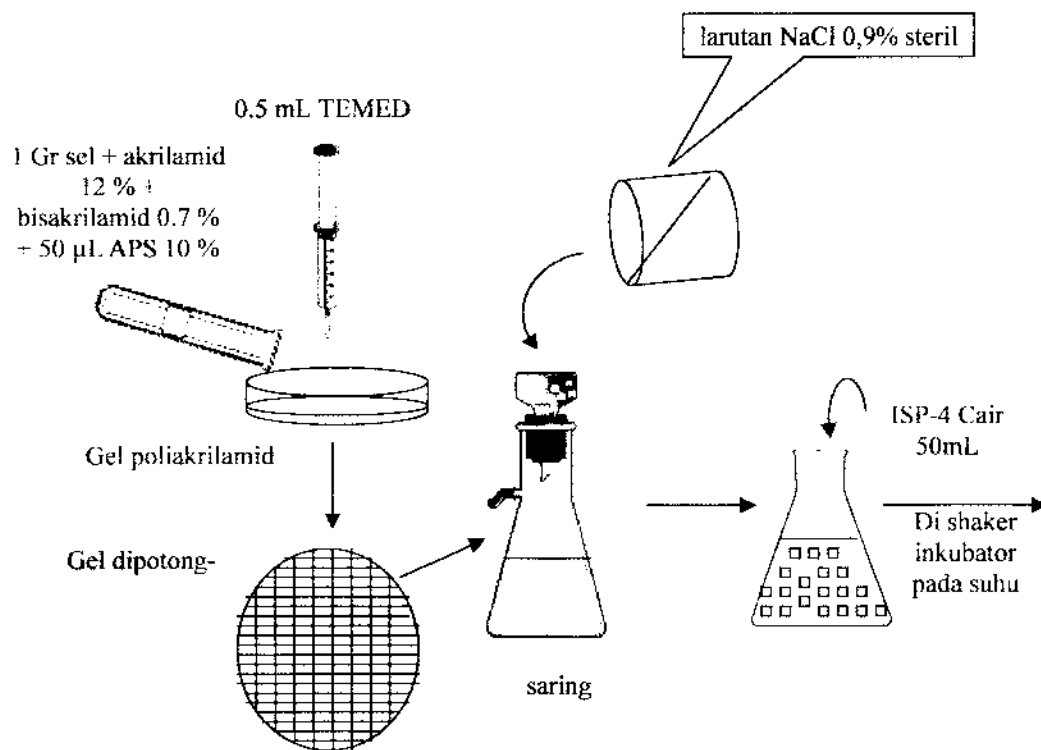
Keterangan :

- A : Konsentrasi monomer akrilamid 8 %
- B : Konsentrasi monomer akrilamid 12 %
- C : Konsentrasi monomer akrilamid 16 %

LAMPIRAN 9

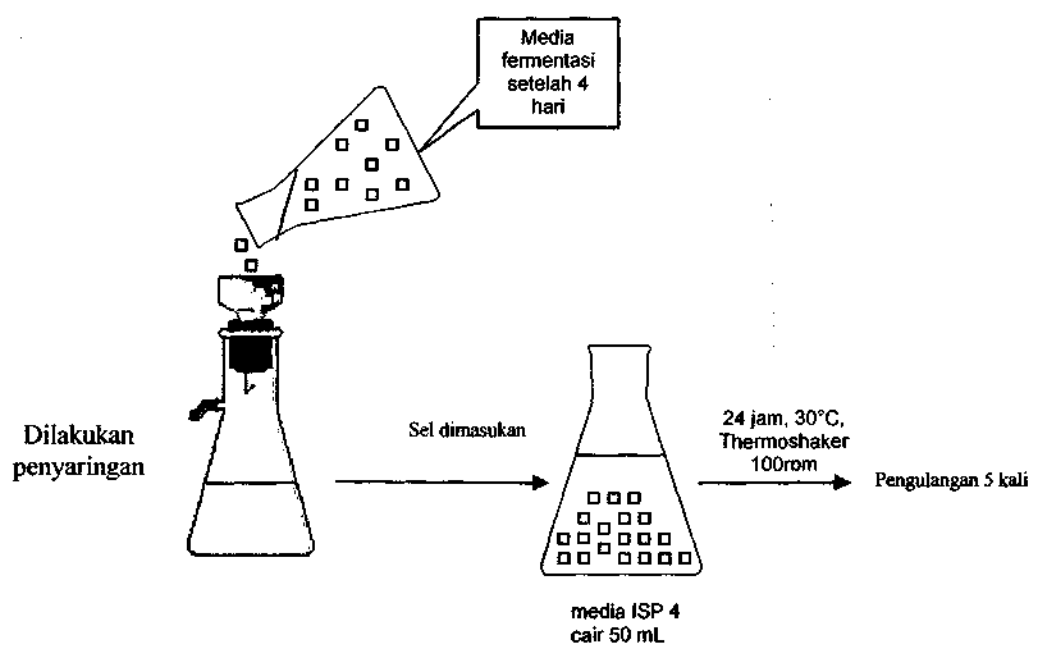
Gambar perbanyakan sel *Streptomyces griseus* ATCC 10137

LAMPIRAN 10



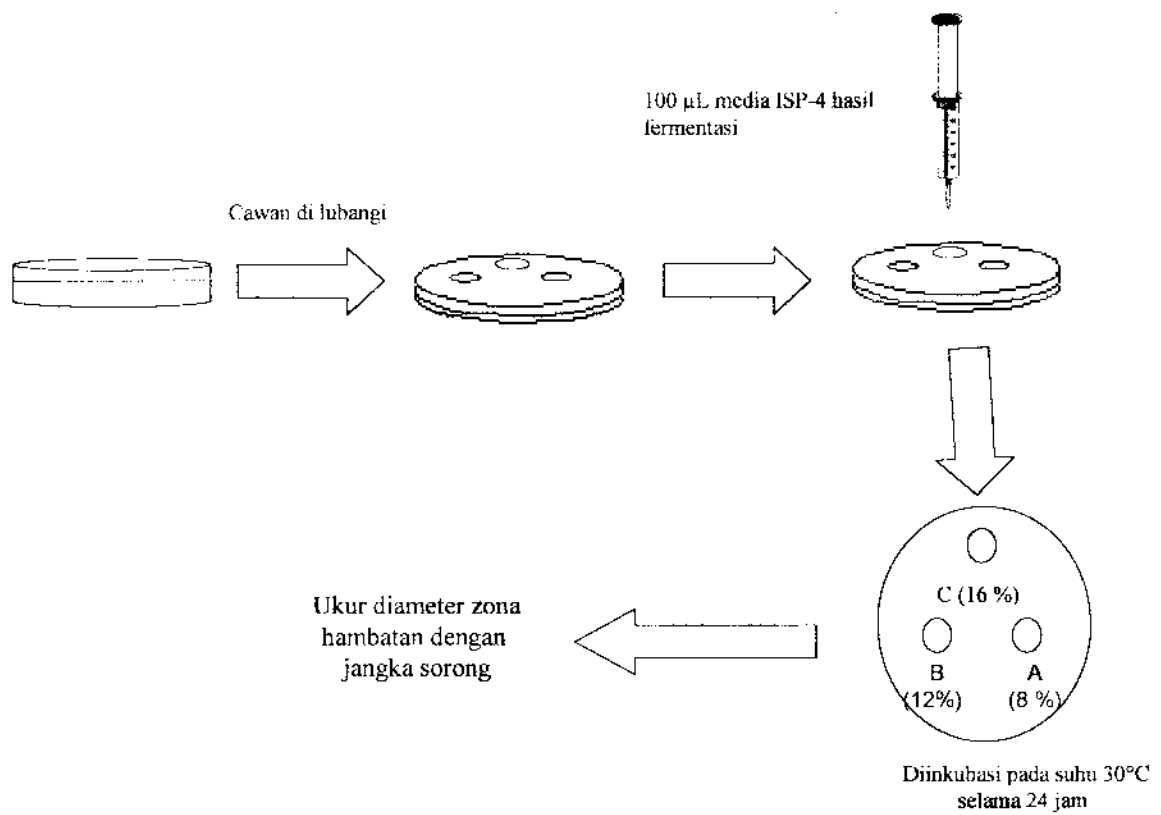
Gambar proses amobilisasi sel

LAMPIRAN 11



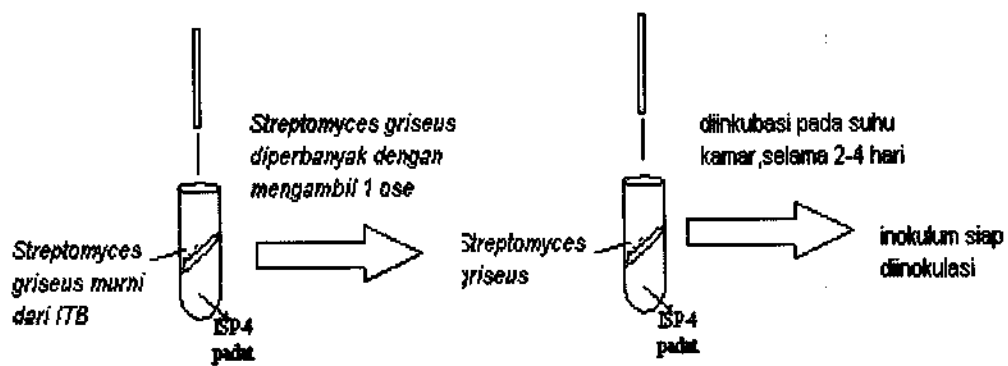
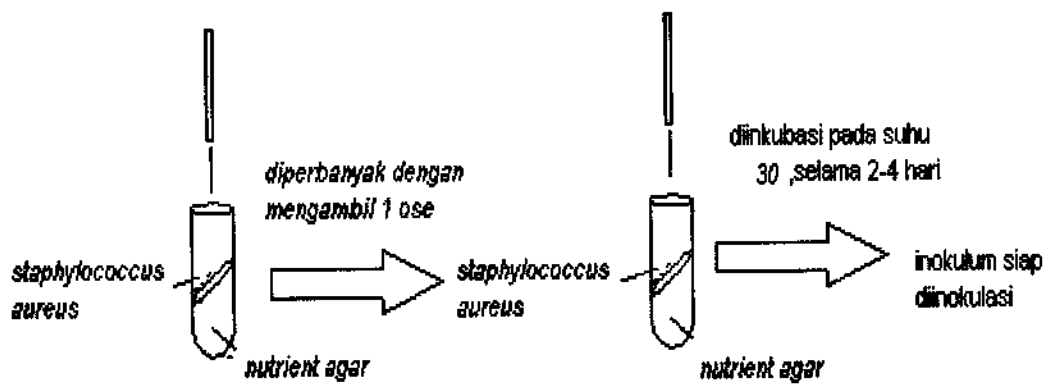
Gambar penggunaan ulang sel amobil

LAMPIRAN 12



Gambar uji potensi antibiotika

Lampiran 13

Gambar peremajaan *Streptomyces griseus* ATCC 10137Gambar peremajaan *Staphylococcus aureus*