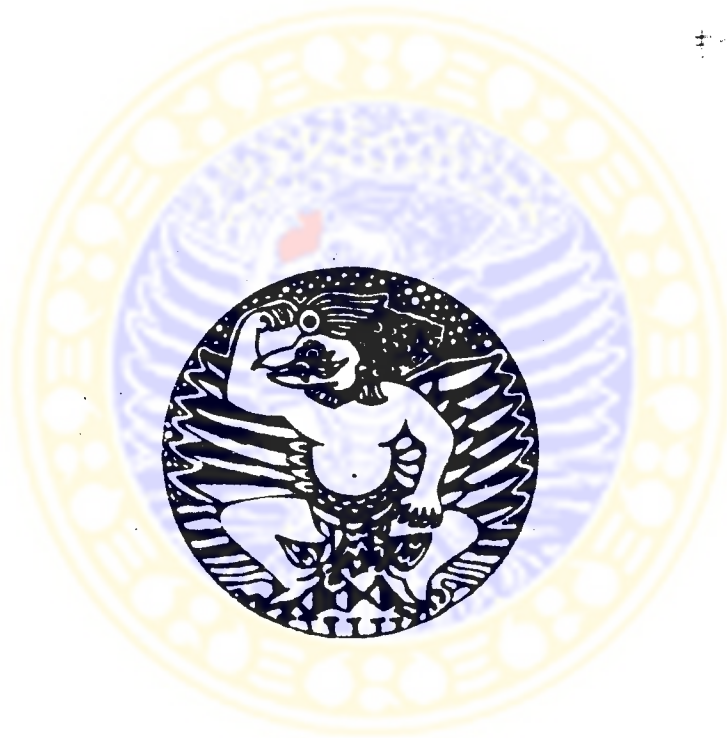


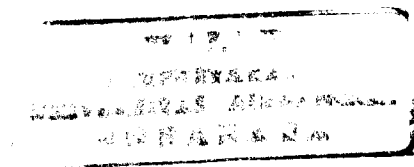
SKRIPSI

ROBBY SUSANTO

**PENGARUH VARIASI MASSA SEL *Streptomyces sp-1* AMOBIL
TERHADAP POTENSI ANTIBIOTIKA
MENGUNAKAN MATRIKS Ca ALGINAT**



**FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
BAGIAN KIMIA FARMASI
SURABAYA
2006**



Lembar Pengesahan

**PENGARUH VARIASI MASSA SEL *Streptomyces sp-1* AMOBIL
TERHADAP POTENSI ANTIBIOTIKA
MENGUNAKAN MATRIKS Ca ALGINAT**

SKRIPSI

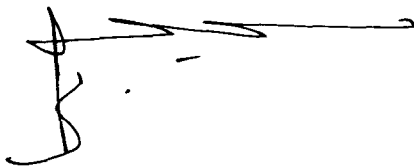
**Dibuat Untuk Memenuhi Syarat
Mencapai Gelar Sarjana Farmasi Pada
Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
2006**

Oleh :

**Robby Susanto
050110063E**

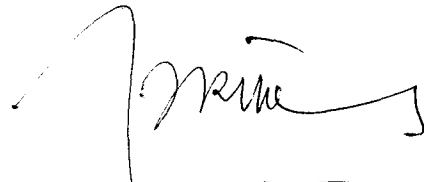
**Skripsi ini telah disetujui
Pada tanggal 22 Juni 2006, oleh :**

Pembimbing Utama



Drs. Achmad Toto P., M.Si., Apt.
NIP. 131 755 998

Pembimbing Serta



Riesta Primaharinastiti, S.Si., M.Si., Apt
NIP. 132 170 739

KATA PENGANTAR

Syukur alhamdulillah kami panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahnya. Sholawat dan salam selalu tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Muhammad SAW. Karena hanya dengan ridho-Nya saya dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “PENGARUH VARIASI MASSA SEL AMOBIL *Streptomyces sp-1* TERHADAP POTENSI ANTIBIOTIKA MENGGUNAKAN MATRIKS Ca ALGINAT”.

Terselesainya skripsi ini juga tidak lepas dari dukungan moral dan material dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini saya ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Noor Cholis Zaini selaku dekan Fakultas Farmasi atas sarana dan fasilitas yang disediakan selama kuliah di Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
2. Bapak Drs. Achmad Toto Poernomo, M.Si, ibu Riesta Primaharinastiti, S.Si, serta ibu Dr. Hj. Isnaeni, MS yang dengan sabar memberi bimbingan dan arahan hingga terselesainya skripsi ini.
3. Bapak Alm. Drs. Heru Wibowo MS., ibu Dra. Nuzul Wahyuning D., Msi atas kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini.
4. Dosen-dosen fakultas farmasi yang selama ini dengan ikhlas memberikan ilmunya.
5. Prof. Dr. Siswandono, MS., Apt selaku Kepala Bagian Kimia Farmasi atas segala bimbingan dan fasilitas yang diberikan.
6. Pak Bakir yang selalu setia menemani dan membuat suasana ceria, mbak Yuyun, mas Gun dan karyawan lainnya yang telah memberikan bantuan dan memberikan suasana yang selalu segar.
7. Bapak dan Mama yang dengan sabar memberi dorongan nasehat serta doanya, Om Harjo, Mas Dodik, Boyka, Pipit, Safrina serta adekku Rosiyadi dan Iin.
8. Faris, Indah, Meity, Mustain, Desy, Evi, Intan, Mirsa, Mbak Andri, Citra, Kobocan, Novi, Yanu serta teman-teman 01. semoga tetap kompak

9. Anak kost KMT, Fahrus, Slamet, Teddy, Novi 03, Indah K.S, Mirza Andini atas perhatian dan bantuannya.
10. Semua pihak yang turut membantu.

Saya menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam skripsi ini, hal ini tidak terlepas dari sifat manusia yang penuh kelemahan dan keterbatasan. Akhirnya, saya berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi ilmu pengetahuan khususnya fakultas farmasi.

Surabaya, juni 2006

Penulis



RINGKASAN

Pengaruh Variasi massa sel Amobil *Streptomyces sp-1* Terhadap Potensi Antibiotika Menggunakan Matriks Ca Alginat

Robby Susanto

Antibiotika adalah kelompok obat yang sering digunakan dalam penyakit infeksi. Seiring perkembangan zaman serta terus meningkatnya kebutuhan masyarakat akan antibiotika, maka diciptakan suatu teknik yang efektif dan efisien dalam memproduksi antibiotika, yaitu amobilisasi sel. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Norton dan Vuilleumard (1994), terdapat beberapa keuntungan yang diperoleh dalam menggunakan teknik amobilisasi sel di antaranya adalah, densitas sel dapat ditingkatkan sehingga produksinya meningkat dan dapat digunakan kembali (*reuse cycle*) dengan produksi metabolit yang relatif stabil.

Dalam penelitian ini bakteri yang digunakan adalah *Streptomyces sp-1* yang di jebak dalam matrik Ca alginat. Sesuai dengan tujuan penelitian, bahwa variasi massa sel amobil dapat mempengaruhi potensi antibiotika, maka digunakan variasi massa sel amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram. Dengan harapan akan terjadi peningkatan potensi antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp-1*, seiring dengan adanya peningkatan massa sel *Streptomyces sp-1* amobil serta untuk mengetahui kondisi massa sel amobil optimal untuk menghasilkan potensi yang maksimal.

Metode penelitian yang dilakukan adalah, pertama-tama *Streptomyces sp-1* dibiakkan dalam media ISP-4, kemudian dilakukan perbanyakan sel dengan memindahkan koloni *Streptomyces sp-1* dari media ISP-4 padat ke media ISP-4 cair. Sel yang telah dipindahkan kemudian diamobilkan dengan cara mensuspensikan sel *Streptomyces sp-1* kedalam larutan alginat 2,5%. suspensi yang terbentuk ditetaskan kedalam larutan CaCl_2 dingin hingga terbentuk manik-manik, ditimbang 2,5 ; 5 dan 7,5 gram. Masing-masing massa sel *Streptomyces sp-1* amobil di fermentasikan ke dalam media ISP-4 cair dan di inkubasi selama 6 hari. Kemudian dilakukan uji potensi antibiotika untuk mengetahui potensi antibiotika hasil fermentasi variasi massa sel *Streptomyces sp-1* amobil (2,5 ; 5 dan 7,5 gram) dalam matrik Ca alginat terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Dari hasil uji potensi antibiotika dibuat profil kurva antara rata-rata diameter zona hambat masing-masing massa sel amobil dengan pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan profil kurva yang dihasilkan diketahui bahwa, semakin tinggi nilai massa sel amobil maka semakin tinggi pula potensi antibiotika yang dihasilkan. Dalam penelitian ini diketahui bahwa massa sel amobil 7,5 gram mempunyai potensi antibiotika yang paling tinggi.

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah ada pengaruh variasi massa sel *Streptomyces sp-1* amobil terhadap potensi antibiotika yang dihasilkan, yang ditunjukkan dengan adanya perbedaan potensi antibiotika antara massa sel *Streptomyces sp-1* amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram. Dimana massa sel *Streptomyces sp-1* amobil 7,5 gram mempunyai potensi antibiotika yang lebih besar dari pada massa sel amobil 2,5 dan 5 gram.

ABSTRACT

This research conducted study the effect of immobilized *Streptomyces sp-1* mass cell in Ca alginat for antibiotic production. Optimization of immobilized mass cell was done with 2.5 , 5 and 7.5 gram weight of the cell. After that, the cell was fermented in a liquid ISP-4 media for six days long, followed by the antibiotic potentiation test using *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Data of this result was plot into a curve, diameters of inhibitory zone vs mass cell, than determine the equation of the curve.

The result of the test showed that immobilized mass cell is an important factor in antibiotic production. Conclusion is that 7.5 gram mass cell of *Streptomyces sp-1* is the most efficient condition for antibiotic production.

Keyword : *Streptomyces sp-1*, antibiotics potentiation test, immobilized mass cell



DAFTAR ISI

	halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
RINGKASAN	v
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	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	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan Tentang <i>Streptomyces sp-1</i>	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.1.2 Morfologi	5
2.2 Tinjauan Tentang Pertumbuhan Mikroba	6
2.2.1 Definisi pertumbuhan	6
2.2.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan.....	6
2.2.3 Parameter sifat fisika sebagai kontrol media sekunder.....	9
2.3 Fermentasi <i>Streptomyces sp-1</i>	10
2.4 Tinjauan Tentang sel amobil.....	12
2.4.1 Teknik amobilisasi sel	12
2.4.2 Penjebakan dengan alginat.....	13
2.5 Tinjauan Tentang Stabilitas Sel Amobil Pada Penggunaan Ulang ...	13

2.6 Tinjauan Tentang Uji Potensi Antibiotika.....	14
2.7 Tinjauan Tentang Antibiotika Hasil Fermentasi.....	15
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	
4.1 Alat.....	18
4.2 Bahan.....	18
4.3 Penyiapan Media.....	18
4.3.1 Pembuatan media nutrien agar.....	18
4.3.2 Pembuatan media ISP 4 cair.....	19
4.4 Pertumbuhan <i>Streptomyces sp-1</i>	19
4.5 Perbanyak Sel.....	19
4.6 Amobilisasi Sel Dalam Ca Alginat.....	20
4.7 Fermentasi Sel Amobil dari <i>Streptomyces sp-1</i>	20
4.8 Uji Potensi Antibiotika.....	20
4.8.1 Penyiapan bakteri uji.....	20
4.8.2 Penyiapan media pembenihan bakteri uji.....	21
4.8.3 Uji potensi dalam media padat.....	21
4.9 Kerangka Operasional.....	22
4.10 Analisa Data.....	26
BAB V HASIL PENELITIAN	
5.1 Penyiapan Media.....	28
5.2 Pertumbuhan <i>Streptomyces sp-1</i>	28
5.3 Perbanyak Sel.....	28
5.4 Pertumbuhan Bakteri Uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	29
5.5 Pembuatan Massa Sel Amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 Gram.....	29
5.6 Fermentasi <i>Streptomyces sp-1</i> Amobil.....	29
5.7 Uji Daya Hambat Antibiotika Hasil Fermentasi Sel Amobil.....	30
5.8 Profil Kurva Antibiotik Hasil Fermentasi.....	32
5.9 Analisa Data.....	33
5.9.1 Uji Korelasi Antara Diameter Zona Hambatan dan Hari Biakan <i>Streptomyces sp-1</i>	34
5.9.2 Uji Anova Untuk Mengetahui Ada Perbedaan	

Potensial Antara Massa Sel Amobil <i>Streptomyces</i> sp-1 2,5 ; 5 dan 7,5 gram	36
5.9.3. Regresi Linier Hubungan Antara Variasi Massa Sel Amobil <i>Streptomyces</i> sp-1 dengan Hari Biakan.....	37
BAB VI PEMBAHASAN	
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	
7.1 Kesimpulan	43
7.2 Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	



DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
2.1 Hubungan konsentrasi nutrient dengan kecepatan pertumbuhan	7
3.1 Diagram kerangka konseptual	17
4.1 Hubungan massa sel amobil dengan potensi antibiotika.....	26
5.1 Profil diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika terhadap pertumbuhan bakteri uji <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	33
5.2 Hubungan antara massa sel <i>Streptomyces sp-1</i> amobil dengan potensi antibiotika.....	38



DAFTAR LAMPIRAN

	halaman
1. Komposisi media nutrient agar	47
2. Komposisi media ISP-4.....	48
3. Perhitungan Anova One Way diameter zona hambatan	49
4. Perhitungan regresi diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika VS hari biakan sel amobil <i>Streptomyces sp-1</i> (2,5 gram).....	51
5. Perhitungan regresi diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika VS hari biakan sel amobil <i>Streptomyces sp-1</i> (5 gram).....	52
6. Perhitungan regresi diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika VS hari biakan sel amobil <i>Streptomyces sp-1</i> (7,5 gram).....	53
7. Perhitungan regresi antara variasi massa sel amobil dengan potensi antibiotika.....	54
8. Tabel koefisien korelasi (r).....	55
9. Tabel t.....	56
10. Gambar variasi diameter zona hambatan	57
11. Gambar manik-manik hasil amobilisasi sel <i>Streptomyces sp-1</i> dalam matriks Ca alginat.....	58
12. Gambar bentuk matrik Ca alginat.....	59
13. Hasil Uji Biokimia <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	60
14. <i>Sertifikat Streptomyces sp-1</i>	61

BAB I

PENDAHULUAN

I.1. Latar belakang

Antibiotika termasuk kelompok obat yang paling sering digunakan dalam terapi penyakit infeksi (Wattimena, 1991). Sejak Alexander Fleming menemukan penisilin pada tahun 1928, sampai saat ini telah banyak jenis antibiotika yang berhasil ditemukan dan dikembangkan, baik menggunakan teknik sintetik maupun semisintetik.

Antibiotika dapat dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama bakteri. Salah satu jenis bakteri yang mampu menghasilkan antibiotika adalah golongan *Streptomyces*. *Streptomyces sp-1* merupakan golongan bakteri yang mampu menghasilkan antibiotika golongan aminoglikosida yang efektif terhadap infeksi kuman Gram negatif dan Gram positif (Ganiswara, 1995).

Proses produksi antibiotika terus berkembang seiring dengan perkembangan teknologi. Pada saat ini produksi antibiotika tidak hanya dilakukan secara konvensional, tetapi juga dengan pengembangan bioteknologi (Beshay, 2003). Dengan adanya ilmu seperti mikrobiologi, rekayasa genetika, biokimia atau ilmu pendukung bioteknologi lainnya, bidang bioteknologi industri telah berhasil mengembangkan teknologinya untuk memproduksi antibiotika. Dalam bidang bioteknologi industri, teknik amobilisasi sel secara luas telah diterapkan pada industri-industri, seperti industri makanan, minuman, farmasi, dan produk-produk kimia lainnya (Chibata, 1996).

Perkembangan produksi antibiotika tersebut juga didasarkan pada kebutuhan masyarakat akan antibiotika yang terus meningkat. Oleh sebab itu, diperlukan suatu teknik yang mampu memproduksi antibiotika secara efektif dan efisien. Salah satu teknik yang sedang diteliti dan akan terus dikembangkan untuk memproduksi antibiotika adalah amobilisasi sel. Teknik ini dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti menempelkan sel pada penyangga padatan sehingga dapat digunakan secara kontinyu atau digunakan kembali dalam proses *batch* (Fardiaz, 1988). Mengacu pada penelitian yang

telah dilakukan oleh Norton dan Vuillemand, 1994 bahwa penggunaan sel mikroba amobil untuk memproduksi enzim mempunyai beberapa keuntungan diantaranya adalah, densitas sel dapat ditingkatkan sehingga produksinya dapat meningkat. Selain itu sel amobil dapat digunakan kembali (*reuse cycle*) dengan produktivitas metabolit yang relatif stabil.

Alginat merupakan salah satu matrik yang digunakan dalam amobilisasi sel. Metode penjebakan dengan menggunakan alginat lebih sering dilakukan, karena sederhana dalam pelaksanaannya, tidak beracun, inert (tidak mempengaruhi antibiotika yang dihasilkan) dan lebih murah (Srinivasulu *et al.*,2003). Penggunaan Na-alginat sebagai "*carrier*" mempunyai keuntungan yaitu sel amobil yang terbentuk memiliki ukuran yang seragam dimana sel terjebak dalam ruangan antar polimer. Sedangkan keuntungan dari matrik Ca alginat adalah manik-manik yang dihasilkan lebih stabil dan tahan lama, mempunyai porositas yang lebih besar sehingga antibiotika yang dihasilkan juga lebih banyak. Hal ini juga mempengaruhi nutrisi yang dapat digunakan oleh sel. Sel akan lebih banyak mendapatkan nutrisi, sehingga metabolit yang dihasilkan juga lebih banyak.

Dalam penelitian ini bakteri yang digunakan sebagai penghasil antibiotika adalah *Streptomyces sp-1*. Bakteri *Streptomyces sp-1* didapat dari fakultas MIPA universitas Airlangga. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri *Streptomyces sp-1* yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari galur yang jelas.

Pertumbuhan *Streptomyces sp-1*. sangat ditentukan oleh nutrisi dan faktor lingkungan. Nutrisi diperlukan untuk membentuk energi dan menyusun komponen-komponen sel. Nutrisi yang diperlukan antara lain karbon, nitrogen, belerang, fosfor, logam, vitamin, dan air. Massa sel amobil (berat sel) merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi potensi dari sel tersebut, hal ini berkaitan dengan pengaruh densitas atau kerapatan sel. Sehingga akan mempengaruhi asupan nutrisi yang dibutuhkan oleh sel. Seperti yang telah dilaporkan oleh Chibata et al, (1996), bahwa massa sel (berat sel) yang bervariasi merupakan parameter yang dapat mempengaruhi jumlah produk yang dihasilkan. Ohlson et al, (1979) melaporkan bahwa, untuk

memproduksi prednisolon dari kortisol digunakan *Arthrobacter simplex* yang diamobilkan dalam matrik Ca alginat dengan berat sel 0,25 – 0,5 gram. Dalam matrik yang sama Fujimura et al, (1984) juga melaporkan bahwa, untuk memproduksi etanol dari glukosa digunakan *Saccharomyces cerevisiae* amobil dengan berat sel 25 gram.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Ohlson et al, (1979) dan Fujimura et al, (1984) pada sel bebas, maka dilakukan penimbangan terhadap sel bebas sejumlah 2,5 ; 5 dan 7,5 gram. Sel bebas yang telah ditimbang kemudian diamobilkan menggunakan matrik Ca alginat. Untuk mengetahui adanya pengaruh variasi massa sel amobil terhadap antibiotika yang dihasilkan, ditimbang sel yang telah diamobilkan dalam berbagai variasi. Dilakukan uji potensi antibiotika untuk mengetahui perbedaan jumlah antibiotika yang dihasilkan dari masing-masing variasi berat.

Dalam penelitian ini, matriks Ca alginat diperoleh dengan cara mereaksikan antara Na alginat dengan CaCl_2 . Tujuan dari penggantian Na menjadi Ca adalah untuk menghasilkan produk gel alginat yang stabil pada suhu dingin, serta pembentukan ligans.

I.2 Rumusan Masalah

1. Apakah variasi massa sel amobil (2,5 ; 5 dan 7,5 gram) dapat mempengaruhi potensi antibiotika ?.
2. Berapa berat sel amobil optimal untuk menghasilkan potensi antibiotika yang maksimal ?.

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk :

1. Mengetahui pengaruh variasi massa sel amobil (2,5 ; 5 dan 7,5 gram) terhadap potensi antibiotika.
2. Mengetahui kondisi (massa sel) paling tinggi untuk menghasilkan potensi antibiotika yang maksimal.

I.4 Hipotesis

Variasi massa (berat) sel amobil dapat mempengaruhi potensi antibiotika.

I.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan mampu memberi manfaat kepada peneliti selanjutnya bahwa potensi antibiotika dapat dipengaruhi oleh massa (berat) sel. Hasil tersebut juga dapat digunakan sebagai landasan konseptual untuk produksi antibiotika menggunakan sel amobil, terutama produksi skala industri.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan tentang *Streptomyces sp-1*.

2.1.1 Klasifikasi

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Protophyta
Class	: Schizomycetes
Ordo	: Actinomycetales
Famili	: Streptomycetaceae
Genus	: Streptomyces
Spesies	: <i>Streptomyces sp-1</i> .

Ordo Actinomycetales diduga merupakan pendahuluan dari golongan jamur (Dwijoseputro, 1998).

2.1.2 Morfologi

Di alam, *Streptomyces sp-1*. banyak dijumpai baik di dalam tanah (lapisan akar tanaman, humus, kompos dan pupuk kandang) maupun di dalam air (Hotta *et al.*, 1988). *Streptomyces sp-1* mempunyai miselium yang pada saat dewasa membentuk tiga sampai beberapa rangkaian spora. Beberapa spesies menunjukkan rangkain spora yang pendek. Pada miselium substrat, spora non motil membentuk koloni-koloni. Pada awalnya permukaan koloni tersebut relatif lembut, tetapi kemudian berkembang meselium yang mungkin tampak granular, serbuk atau beludru, menghasilkan bermacam-macam pigmen yang bertanggung jawab pada pewarnaan miselia vegetatif dan aerial. Jika dilihat dari struktur dinding selnya, *Streptomyces sp-1*. termasuk golongan bakteri Gram positif.

Koloni *Streptomyces sp-1*. dapat dikenali dari baunya yang khas (seperti bau tanah). Hal ini disebabkan oleh metabolit yang dikeluarkan oleh *Streptomyces sp-1*. (Izaquirre *et al.*, 1982). Dengan adanya aktivitas enzim fenolaksidase, maka warna koloni *Streptomyces sp-1*. bervariasi, mulai dari putih keabuan sampai coklat. Tahap pertumbuhan dimulai dari pembentukan

miselia primer (substrat), diikuti dengan pembentukan miselia sekunder (permukaan/aerial). Proses ini merupakan tahap perubahan dari spora menjadi miselia vegetatif yang tidak mengalami fragmentasi. Antibiotika aminoglikosida akan terbentuk di antara kedua fase tersebut untuk melindungi hifa yang masih muda dari pengaruh lingkungan.

2.2 Tinjauan tentang pertumbuhan mikroba

2.2.1 Definisi pertumbuhan

Pertumbuhan makhluk hidup dapat ditinjau dari dua segi, yaitu pertumbuhan sel dan pertumbuhan populasi. Pertumbuhan sel diartikan sebagai penambahan volume sel serta bagian-bagian sel lainnya, yang diartikan pula sebagai penambahan kuantitatif isi dan kandungan dalam selnya. Pertumbuhan populasi adalah pertumbuhan yang diakibatkan oleh penambahan jumlah individu. 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, 1992).

Pertumbuhan sel bakteri melibatkan tipe reaksi kimia. Reaksi utama dalam sintesa sel adalah polimerisasi yaitu proses pembentukan polimer dari beberapa monomer yang meliputi reaksi pembentukan DNA, RNA dan protein. Makromolekul yang terbentuk akan menyusun struktur sel seperti dinding sel, ribosom dan sebagainya (Brock, 1994)

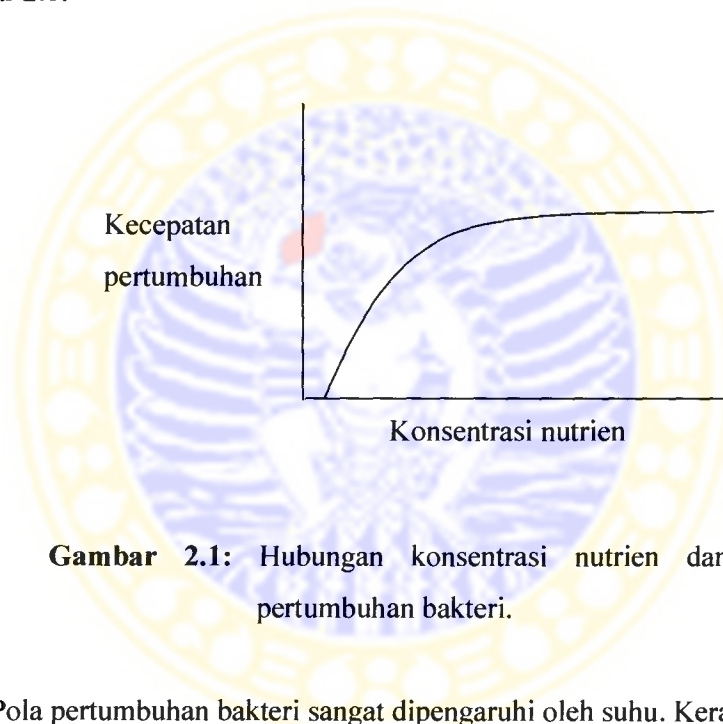
2.2.2 Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri meliputi nutrisi, suhu, oksigen dan pH.

Bakteri memerlukan nutrisi untuk pertumbuhannya. Kebutuhan nutrisi satu bakteri dan bakteri lain berbeda-beda, nutrisi tersebut diperlukan untuk membentuk energi dan menyusun komponen-komponen sel. Nutrisi yang diperlukan bakteri antara lain karbon, nitrogen, belerang, fosfor, logam, vitamin dan air (Ratna Sari, 1986). Semua organisme memerlukan karbon sebagai sumber energi yang sebagian besar berupa senyawa karbon organik, seperti gula dan karbohidrat lain. Selain karbon, bakteri juga memerlukan

nitrogen. Beberapa tipe bakteri menggunakan nitrogen atmosferik dan beberapa tumbuh pada senyawa nitrogen anorganik, dan yang lainnya membutuhkan nitrogen dalam bentuk senyawa nitrogen organik.

Bakteri memerlukan nutrisi dalam konsentrasi tertentu untuk pertumbuhannya. Konsentrasi nutrisi tersebut akan mempengaruhi kecepatan pertumbuhan bakteri. Pada konsentrasi rendah, kecepatan pertumbuhan menjadi lambat karena nutrisi yang masuk ke dalam sel tidak mencukupi, sehingga proses metabolisme tidak berlangsung sebagaimana mestinya. Sedangkan pemberian nutrisi yang melebihi kebutuhan sel tidak akan menyebabkan penambahan kecepatan pertumbuhan. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1: Hubungan konsentrasi nutrisi dan kecepatan pertumbuhan bakteri.

Pola pertumbuhan bakteri sangat dipengaruhi oleh suhu. Keragaman suhu dapat mengubah proses-proses metabolik tertentu serta morfologi sel. Masing-masing bakteri mempunyai suhu optimum, minimum dan maksimum, untuk pertumbuhannya. Apabila suhu dinaikkan sampai suhu maksimumnya maka reaksi kimia dan reaksi enzimatik dalam sel akan meningkat, sehingga pertumbuhan terjadi dengan cepat, sedangkan di atas suhu maksimum protein, asam nukleat dan komponen-komponen sel lainnya akan terdenaturasi (Brock, 1994).

Berdasarkan suhu pertumbuhannya, maka bakteri dapat di klasifikasikan menjadi beberapa kelompok seperti yang tercantum pada Tabel 2.1 (Fardiaz, 1992).

Tabel 2.1. Kisaran suhu untuk pertumbuhan bakteri

Kelompok Bakteri	Suhu pertumbuhan (°C)		
	Minimum	Optimum	Maksimum
Psikrofil	5	5 – 15	20
Mesofil	10	20 – 40	45
Termofil	25	45 – 60	80

Suhu inkubasi yang memungkinkan pertumbuhan tercepat selama periode waktu yang singkat (12,5 sampai 24 jam) disebut sebagai suhu pertumbuhan optimum. *Streptomyces sp-1*. adalah bakteri mesofil, sehingga suhu pertumbuhan optimumnya 20-40 °C

Nilai pH medium sangat mempengaruhi jenis bakteri yang dapat tumbuh. Bakteri umumnya dapat tumbuh pada kisaran pH 3-6. Kebanyakan bakteri mempunyai pH optimum yaitu pH untuk pertumbuhan maksimum \pm 6,5-7,5. Pada pH di bawah 5,0 dan di atas 8,5 bakteri tidak dapat tumbuh dengan baik, kecuali bakteri asam asetat (*Acetobacter suboxydans*) dan bakteri oksidasi sulfur (Fardiaz, 1992). Selama kultivasi dapat terjadi perubahan pH media, karena adanya senyawa-senyawa asam ataupun basa yang dihasilkan oleh bakteri. Perubahan pH ini dapat menghambat pertumbuhan. Oleh karena itu, pada media perlu ditambahkan larutan dapar yaitu larutan yang mampu mempertahankan perubahan pH dengan adanya penambahan sedikit larutan asam ataupun basa.

2.2.3 Parameter Sifat Fisika Sebagai Kontrol Metabolisme Sekunder

Parameter sifat fisika sebagai kontrol metabolisme sekunder diantaranya adalah : temperatur, pH, oksigen, salinitas, dan tekanan, dengan masing-masing parameter tersebut dijelaskan seperti dibawah ini :

Temperatur

Temperatur merupakan faktor yang harus dipertimbangkan, karena faktor fisika ini dapat memberikan efek yang berbeda pada fase pertumbuhan dan fase produksi metabolit sekunder. Sebagai contoh, *Alteromonas* tumbuh dengan baik pada suhu 28°C, tetapi dapat memproduksi lebih banyak zat antiviral pada suhu 25°C (Myogga *et al.*, in Marwick, 1999). Suhu merupakan faktor penting pada proses metabolisme sekunder *Streptomyces thermaviolaceus* (James *et al.*, in Marwick 1999), jika suhu diturunkan dari tingkat normalnya, maka akan terjadi peningkatan produksi mitotoksin dari *Aspergillus* (Tepsic *et al.*, in Marwick 1999).

pH

pH medium pertumbuhan dapat memberikan efek pada produksi metabolit sekunder. Sintesis metabolit sekunder akan berkurang secara drastis pada saat pH pertumbuhan bakteri mencapai optimal. Keadaan ini terjadi pada produksi Violasin dari bakteri laut *Alteromonas leuteoviolacea*. Penurunan produksi metabolit sekunder terjadi pada pH 0-9, produksi metabolit sekunder meningkat pada pH 7 (McCarthy *et al.*, in Marwick 1999). Hal serupa terjadi pada *Pseudomonas fluorescens*, penurunan produksi phenasin secara drastis pada pH 8, produksi phenasin menjadi optimum pada pH 7 (Slininger and Shea-Willbur, in Marwick, 1999)

Oksigen

Suplai oksigen pada media merupakan faktor kritis yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri pada fermentasi aerobik. Peningkatan tekanan oksigen diketahui dapat menyebabkan peningkatan sintesis metabolit sekunder pada *Streptomyces parvulus* (Keiser *et al.*, in Marwick 1999). Sebaliknya, pengaruh

oksigen pada *Saccharopolyspora erythraea* dapat menyebabkan tidak aktifnya gramisidin synthase dan mengurangi produksi gramisidin oleh *Bacillus brevis*. Transfer oksigen merupakan salah satu parameter penting dalam perencanaan reaktor dan merupakan faktor yang paling menentukan.

Salinitas

Efek salinitas dalam metabolisme sekunder belum diketahui dengan pasti. Salinitas pernah diteliti oleh Okami *et al*, (Marwick 1999) tentang pengaruhnya terhadap produksi aplasmomycin dari *Streptomyces* habitat laut. Ternyata, derajat optimal salinitas harus ditentukan, terutama pada fase pertumbuhan dan fase produksi metabolit sekunder. Penurunan derajat salinitas dapat menurunkan pertumbuhan bakteri, dan kemungkinan bersamaan dengan itu terjadi pula penurunan penerusan energi untuk pengaturan garam sitoplasmik. Peningkatan kadar garam mungkin dapat menyebabkan masalah kerusakan bioreaktor dan dapat menghambat pelarutan oksigen ke dalam fase air media (Garcia and Gordon, in Marwick 1999).

Tekanan

Pengaruh tekanan mungkin dapat mengakibatkan penekanan terhadap bakteri untuk meningkatkan produksi metabolit sekunder. Efek terhadap tekanan yang kecil dapat meningkatkan metabolisme sekunder pada nonbarofilik bakteri (Nelson *et al.*, in Marwick 1999).

2.3. Fermentasi *Streptomyces sp-1*.

Telah banyak diketahui bahwa fermentasi antibiotika oleh golongan Actinomycetes bukan berdasarkan spesifik spesies tetapi berdasarkan spesifik galur, meskipun dasar biokimia dan genetika untuk spesifik galur produksi antibiotika masih terbatas untuk pengetahuan tentang biosintesis dan regulasinya. Jalur biosintesis untuk tiap-tiap galur berbeda-beda, karena enzim yang terlibat dalam setiap tahap reaksi juga berbeda-beda, bekerjanya spesifik dan sangat tergantung substrat. *Streptomyces sp-1*. termasuk galur yang memproduksi berbagai tipe antibiotik seperti streptomisin (Hotta dan Ishikawa,

1988). *Streptomyces sp.* secara alami dikenal sebagai sumber penghasil streptomisin, suatu antibiotika aminoglikosida berinti streptidin.

Streptomyces sp-1. memproduksi metabolit sekunder berupa antibiotika (Fardiaz, 1987). Streptomisin diproduksi oleh *Streptomyces sp-1.* dalam kultur murni media fermentasi aerobik di bawah kondisi aseptis. Media yang digunakan pada proses fermentasi dalam menghasilkan antibiotik pada dasarnya harus mengandung sumber nitrogen, sumber karbohidrat, sumber mineral, makro dan mikroelemen lainnya yang dipergunakan untuk proses metabolisme sel yaitu pertumbuhan sel ataupun proses biosintesis metabolitnya (Poernomo, 1997).

Streptomisin diproduksi lebih efektif dalam keadaan terendam dan digerakkan, dari pada dalam keadaan diam atau dipermukaan kultur *Streptomyces sp-1.* Beberapa sub galur telah diketahui mampu memproduksi streptomisin lebih efektif dari kultur induknya, meskipun campuran yang diproduksi semua terlihat sama

Fermentasi sangat dipengaruhi oleh komposisi media yang membutuhkan faktor nutrisi. Produksi dapat didukung oleh penambahan glukosa pada medium yang mungkin dapat digunakan sebagai sumber energi pertumbuhan atau untuk produksi asam organik yang mereduksi alkali, juga dengan cara meningkatkan konsentrasi trypton pada kultur media.

Komposisi media sangat mempengaruhi streptomisin yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp-1.* Media yang pertama kali digunakan oleh Waksman tahun 1943 terdiri dari larutan yang mengandung 1% glukosa, 0,5% pepton, 0,3% ekstrak daging, 0,5% natrium klorida. Amilum dapat digunakan sebagai pengganti glukosa (Anonim, 1952).

2.4 Tinjauan tentang sel amobil

2.4.1 Teknik amobilisasi sel

Amobilisasi sel biasanya banyak digunakan dengan cara ikatan pada permukaan bahan amobil dan penjebakan ikatan, meliputi penempelan sel pada permukaan dengan cara interaksi ionik ataupun dengan ikatan kovalen. Proses penjeratan adalah “menangkap” sel dengan menggunakan struktur pelindung matrik atau dapat berupa “kapsulasi” yang berguna untuk mengurangi pelepasan sel, namun hanya dapat menghasilkan transfer masa yang sedikit.

Metode amobilisasi enzim, sel mikroba, sel tanaman maupun sel hewan pada prinsipnya sama dan dapat dikelompokkan menjadi tiga kategori yaitu :

- (1) Metode ikatan dengan matriks
- (2) Metode ikatan silang, dan
- (3) Metode penjebakan

Metode-metode tersebut merupakan modifikasi metode-metode yang sudah ada. Teknik penjeratan merupakan salah satu metode amobilisasi sel. Dalam teknik penjebakan, sel secara fisik dijerat di dalam polimer yang terbuat dari alam atau sintetik. Berbagai macam pembawa dibagi menurut mekanisme dengan pembentukan gelnya. Mekanisme pembentukan gel pada amobilisasi menurut Chibata et al (1996) ditampilkan dalam Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Mekanisme pembentukan gel untuk amobilisasi sel

Mekanisme pembentukan gel	Contoh polimer
1. Penjebakan	Poliakrilamid, polimetakrilamid, karagenan, alginat, kolagen.
2. Ikatan silang	Glutaraldehid, disosianat toluen.
3. Ikatan dengan carier	Dekstran, gelatin, polivinil klorida, resin, kaca porus.

2.4.2 Penjebakan dengan Alginat

Alginat terbuat dari bahan alam, merupakan hasil ekstraksi sejenis *algae*, yang merupakan heteropolisakarida asam D-manuronat dan asam L-guluronat (Nedovic *et al.*, 1996). Dengan adanya kation monovalen, alginat menjadi bentuk yang larut dalam air, tetapi dengan kation polivalen, seperti Ca^{2+} , Ba^{2+} , dan Sr^{2+} , akan terbentuk polimer inert melalui ikatan antara kation polivalen dengan asam L-guluronat. Bagian dari alginat ini yang digunakan untuk menjebak sel mikroba di dalam matrik (Nedovic *et al.*, 1996). Dalam penelitian sebelumnya telah disebutkan bahwa terdapat beberapa parameter yang mempengaruhi amobilisasi sel dalam matrik kalsium alginat, diantaranya perbedaan berat molekul dan komposisi kimia, temperatur yang digunakan (0°C - 80°C). Sel yang dapat digunakan mempunyai berat hingga 30g berat basah per mL (Chibata *et al.*, 1996).

2.5. Tinjauan Tentang Stabilitas Sel Amobil pada Penggunaan Ulang

Telah dilaporkan oleh Srinivasulu *et al.* (2003) pada penggunaan ulang amobilisasi sel *Streptomyces marinensis* Nuv-5 dengan matriks Ca-alginat untuk produksi neomisin diperoleh hasil bahwa, dengan pengulangan batch setiap 96 jam selama 36 hari sampai manik-manik yang terbentuk hancur menunjukkan peningkatan produksi neomisin yang maksimal pada pengulangan ke-5. Setelah itu produksi, neomisin berangsur-angsur menurun. Selain itu, penggunaan ulang sel amobil juga dilakukan oleh Beshay (2003) pada *Teredinobacter turnirae* dalam produksi alkalin protease dengan matriks penjebak Ca-alginat dan diperoleh hasil bahwa dengan pengulangan batch setiap 48 jam menunjukkan peningkatan produksi alkalin protease yang maksimal pada pengulangan ke-4. Setelah itu produksi alkalin protease menjadi stabil.

2.6. Tinjauan Tentang Uji Potensi Antibiotika

Aktivitas (potensi) antibiotika dapat ditunjukkan dengan efek daya hambatnya 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. Ada dua metode umum yang dapat digunakan, yaitu penetapan dengan lempeng-silinder atau “lempeng” dan penetapan dengan cara “tabung” atau turbidimetri. Metode lempeng dilakukan berdasarkan atas difusi antibiotika dari silinder yang dipasang tegak lurus pada lapisan agar padat dalam cawan petri atau lempeng, sehingga mikroba yang ditambahkan dihambat pertumbuhannya pada daerah yang berupa lingkaran atau zona di sekeliling silinder yang berisi cairan antibiotika. Metode turbidimetri berdasarkan atas hambatan pertumbuhan biakan mikroba dalam larutan serba sama antibiotika, dalam media cair yang dapat menumbuhkan mikroba dengan cepat bila tidak terdapat antibiotik (Anonim, 1995).

Zona hambatan pada inokulasi dengan menggunakan media agar telah digunakan secara kualitatif untuk mengetahui aktivitas daya hambat antibiotika terhadap pertumbuhan bakteri. Potensi antibiotika ditetapkan melalui perbandingan sediaan uji dengan larutan pembanding yang masing-masing menghasilkan derajat hambatan pertumbuhan yang sama pada biakan jasad renik yang peka dan sesuai, berupa lingkaran atau zona hambatan di sekeliling silinder atau pencadang. Cara pengujian potensi antibiotika streptomisin dilakukan dengan metode lempeng. Hal ini sesuai dengan metode standar Farmakope Indonesia IV (1995).

Uji potensi antibiotika sel amobil *Streptomyces marinensis* Nuv-5 pernah dilakukan oleh Srinivasulu *et al.*, 2003 pada produksi neomisin, menggunakan *Staphylococcus epidermidis* NCIM 2493 sebagai mikroba uji dan neomisin sulfat sebagai standar.

2.7. Tinjauan Tentang Antibiotika Hasil Fermentasi *Streptomyces sp-1*

Antibiotika adalah senyawa kimia khas yang dihasilkan oleh organisme hidup, termasuk turunan senyawa dan struktur analognya yang dibuat secara sintetik, dan dalam kadar rendah mampu menghambat proses penting dalam kehidupan satu spesies atau lebih mikroorganisme (Soekarjo dan Siswandono, 2000). Berdasarkan sifatnya, ada antibiotika yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba dikenal sebagai aktivitas *bakteriostatik* dan ada yang bersifat membunuh mikroba dikenal sebagai aktivitas *bakterisid*. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba atau membunuhnya masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibiotika tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisid bila kadar antibiotiknya ditingkatkan melebihi KHM.

Antibiotik dibagi menjadi dua kelompok yaitu berspektrum sempit (seperti benzilpenisilin dan streptomisin) dan berspektrum luas (seperti tetrasiklin dan kloramfenikol). Berdasarkan mekanisme kerjanya, antibiotik dibagi dalam lima kelompok, yaitu kelompok yang mengganggu metabolisme sel bakteri, kelompok yang menghambat dinding sel bakteri, kelompok yang mengganggu permeabilitas membran sel bakteri, kelompok yang menghambat sintesis sel bakteri, dan kelompok yang menghambat sintesis atau merusak asam nukleat sel bakteri (Ganiswara, 1995).

Antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces sp-1* adalah antibiotika golongan aminoglikosida dengan mekanisme kerja menghambat sintesis protein. Salah satu antibiotika yang dihasilkan adalah streptomisin, memiliki spektrum yang lebih luas dari penisilin dan efektif terhadap bakteri Gram negatif seperti *Salmonella typhi*, *Paratyphi B*, *Pseudomonas aeruginosa* dan beberapa bakteri Gram positif seperti *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Potensi antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp-1* tergantung pada komposisi media fermentasi yang digunakan, satuannya adalah µg per mL atau unit per mL.

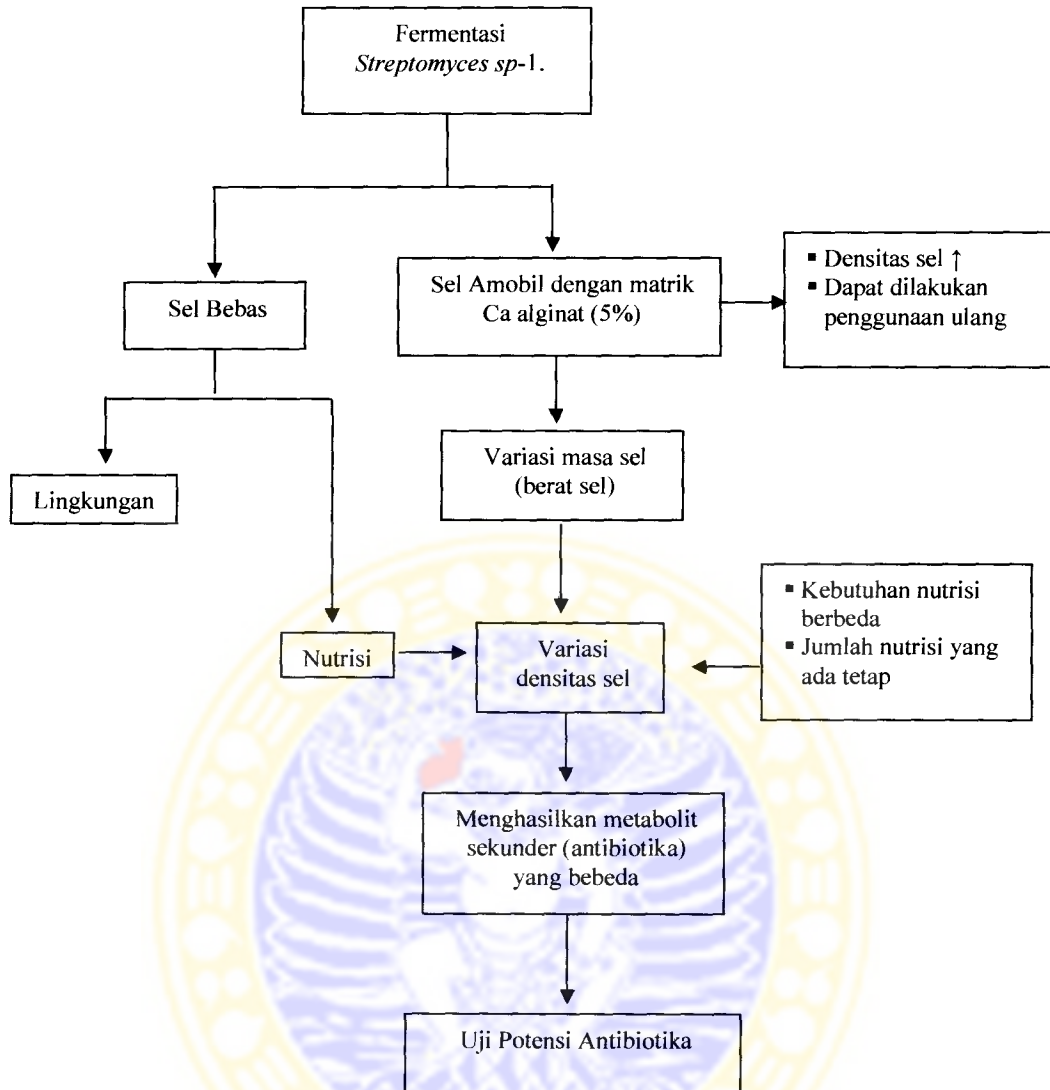
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

Streptomyces sp-1. merupakan salah satu jenis bakteri golongan *Streptomyces* yang dapat menghasilkan antibiotika golongan aminoglikosida yang efektif terhadap infeksi yang disebabkan oleh kuman Gram negatif dan positif. Antibiotika merupakan hasil metabolit sekunder yang dapat diperoleh melalui dua cara, yaitu menggunakan sel bebas dan sel yang diamobilkan. Amobilisasi sel merupakan salah satu teknik dalam “Bioteknologi” yang sering digunakan untuk memproduksi antibiotika (Poernomo, 1997). Beberapa keuntungan yang dapat diperoleh dengan menggunakan sel amobil adalah densitas sel dapat ditingkatkan sehingga, produksinya meningkat. Selain itu, sel amobil dapat digunakan kembali (*reuse cycle*) dengan produktivitas metabolit yang relatif stabil (Norton dan Vuilleumart, 1994).

Di dalam penggunaan sel amobil, terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi produktivitasnya, di antaranya adalah variasi massa sel amobil. Adanya variasi massa sel (berat sel) amobil dapat mempengaruhi pertumbuhan sel dan energi yang dihasilkan, hal ini terkait dengan densitas dan jumlah nutrisi yang dibutuhkan oleh sel yang telah diamobilkan. Hal ini juga akan berpengaruh pada besarnya antibiotika yang dihasilkan, karena jumlah nutrisi yang tersedia dalam media fermentasi tetap. Seperti yang telah dilaporkan Chibata et al, (1996) bahwa variasi berat sel dapat mempengaruhi proses amobilisasi sel.

Untuk mengetahui seberapa besar perbedaan potensi yang dihasilkan akibat pengaruh dari perbedaan variasi massa sel amobil, maka dilakukan uji potensi antibiotika. Di dalam proses penjeratan, sel akan ditangkap menggunakan struktur pelindung matrik atau dapat berupa kapsulasi yang berguna untuk mengurangi pelepasan sel, tetapi tetap dapat menghasilkan transfer massa. Ca alginat merupakan salah satu matrik yang dapat digunakan dalam amobilisasi sel.



Gambar 3.1 : Diagram Kerangka Konseptual

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah, timbangan analitik (Sartorius), thermoshake (Gerhardt), inkubator (Menmert), jangka sorong (Tricle brand), ose (sengkelit), ring (silender), pipet mikro (Socorex), pH meter (Winlabs), otoklaf (Pressure Steam Sterilizer 0,14 Mpa), laminar air flow cabinet (Dalton), dan alat-alat gelas.

4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah, kultur *Streptomyces sp-1*. (dari laboratorium Biologi Lingkungan Fakultas Matematika dan Pengetahuan Alam Universitas Airlangga), kultur *Staphylococcus aureus ATCC 25923*. (dari laboratorium Bakteriologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga), sodium alginat (Sigma), media nutrient broth (Difco), amilum (E.Merck), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ p.a (E.Merck), K_2HPO_4 p.a (E.Merck), NaCl p.a (E Merck), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (E Merck), CaCO_3 p.a (E Merck), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (E Merck), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (E.Merck), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (E Merck), *yeast extract* (Sigma), *malt extract* (Sigma), glukosa (Wako PureChemical Industri, Ltd) dan agar.

4.3 Penyiapan Media

4.3.1 Pembuatan media *Nutrient Agar*

Ditimbang 8 gram *Nutrient Agar*, kemudian ditambahkan 950 mL air dalam erlenmeyer, lalu dipanaskan sambil diaduk hingga larut dan ditambahkan air suling sampai 1 liter. Larutan *Nutrient Agar* dibagi dalam tabung reaksi, dimana masing-masing tabung berisi 20 ml larutan kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

4.3.2 Pembuatan media ISP-4

Semua komponen media ISP-4 yang tercantum pada lampiran (2) ditimbang seksama, dan dilarutkan dengan menambahkan 950 mL air suling, kemudian dipanaskan di atas *Hot plate* sambil diaduk dengan pengadukan konstan, hingga semua bahan terlarut, pH diatur 7,2, ditambah air suling sampai 1 Liter, kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

4.4 Pertumbuhan *Streptomyces sp-1*.

Streptomyces sp-1. dari kultur persediaan induk diperbanyak dengan cara diambil sebanyak satu goresan Ose dan ditanam dalam media ISP-4 padat segar, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah inokulum berumur 2-4 hari, siap untuk diinokulasi lebih lanjut

4.5 Perbanyak sel

Diambil 5 mL ISP-4 cair, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi kultur *Streptomyces sp-1*. dalam media agar miring, kemudian dikocok. Spora yang terlepas akan tersuspensikan dalam ISP-4 cair, kemudian dipindahkan ke dalam erlenmeyer 250 mL, yang berisi ISP-4 cair steril sebanyak 45 mL, kemudian diinkubasi dalam shaking incubator pada suhu 30°C dengan kecepatan 100 rpm selama 24 jam (sebagai starter). Starter sebanyak 50 ml dipindahkan ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi ISP-4 cair steril sebanyak 100 mL, dan diinkubasi lagi pada suhu 30°C dengan kecepatan 100 rpm selama 24jam. Kemudian seluruh isi erlenmeyer dipindahkan ke dalam tabung sentrifugasi yang telah ditara, lalu disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan sel dari media. Sel yang telah terpisah dicuci dengan larutan salin sebanyak tiga kali. Sel yang telah dicuci ditimbang 5 gram.

4.6 Amobilisasi Sel Dalam Ca Alginat

Dibuat larutan alginat (2,5%) dengan cara ditimbang natrium alginat sebanyak 2,5 gram, kemudian dilarutkan dalam 100 mL air mendidih. Dikocok dengan stirer selama 10 menit, disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ke dalam erlenmeyer yang berisi 100 ml larutan Na alginat steril ditambahkan sel yang telah dipanen pada saat fase logaritmik, yang sebelumnya telah disuspensikan dengan 2 mL larutan salin.

Dibuat larutan CaCl_2 0,2M steril, kemudian didinginkan. Diteteskan larutan alginat steril ke dalam larutan CaCl_2 0,2M steril, sehingga diperoleh butiran-butiran alginat. Butiran-butiran disuspensikan kembali ke dalam larutan CaCl_2 steril yang dibuat segar, kemudian didiamkan 10 menit. Butiran gel dicuci dengan larutan salin steril sebanyak 3 kali. Jika butiran gel kalsium alginat tidak digunakan, harus ditambah larutan salin dan disimpan dalam refrigerator (Beshay, 2003).

4.7 Fermentasi sel amobil *Streptomyces sp-1*.

Sel amobil yang telah dipisahkan ditimbang 2,5, 5, dan 7,5 gram, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi 50 mL media ISP-4 cair, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 96 jam (Srinivasulu *et al.*, 2003). Pengambilan sampel dilakukan untuk uji potensi antibiotik mulai hari ke-1 sampai hari ke-4 sebanyak 3 mL.

4.8 Uji Potensi Antibiotik

4.8.1 Penyiapan bakteri uji

Staphylococcus aureus ATCC 25923. dari kultur persediaan induk diperbanyak dengan cara diambil sebanyak satu goresan Ose dan ditanam dalam media *Nutrient Agar*, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam.

4.8.2 Penyiapan media perbenihan bakteri uji

Media dasar dan media inokulum yang digunakan pada penelitian ini merupakan modifikasi dari yang tertera pada Farmakope Indonesia IV. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, yang ditumbuhkan pada media *Nutrient Agar* miring ditambahkan 10 mL larutan salin steril dan dikocok pelan sampai biakan terlepas dari media, diukur sampai prosen transmisinya 25% pada λ 580 nm. Inokulum yang memiliki transmittan 25% disimpan dalam lemari es sebagai stok mikroba uji dan dilakukan peremajaan setiap 3-4 minggu sekali.

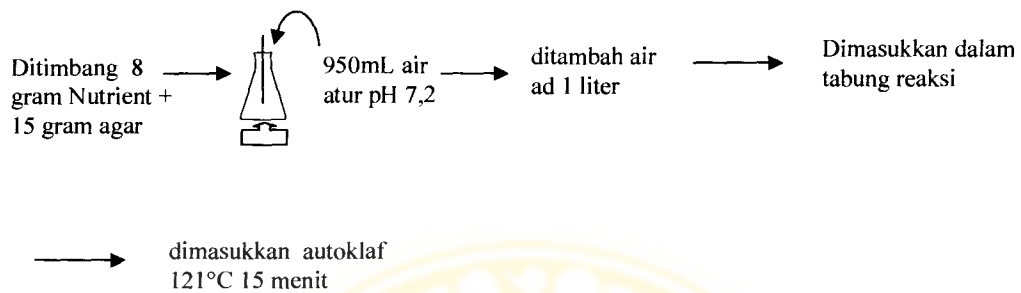
Dituang 10 mL media *Nutrient Agar* dalam cawan dan dibiarkan memadat sebagai lapisan dasar dengan ketebalan seragam \pm 2mm. Ditambahkan 7,5 μ L suspensi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, yang mempunyai transmittan 25% ke dalam 7,5 mL media *Nutrient Agar* dan dicampur sampai homogen, kemudian dituang ke dalam cawan di atas permukaan media dasar. Lempeng diputar untuk meratakan ketebalan media dan dibiarkan memadat, kemudian cawan ditutup (Panitia Farmakope Indonesia, 1995 dan Isnaeni, 1998)

4.8.3 Uji potensi dalam media padat

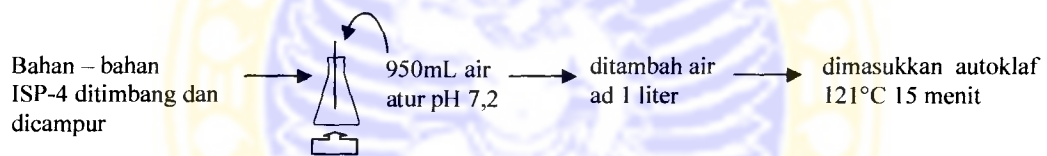
Diambil masing-masing 0,250 ml kaldu fermentasi dari tiap perlakuan dan dituangkan ke dalam pencadang (sumur) pada media pembenihan bakteri uji. Biakan diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam, diukur dan dicatat diameter zona hambatannya dengan jangka sorong.

KERANGKA OPERASIONAL

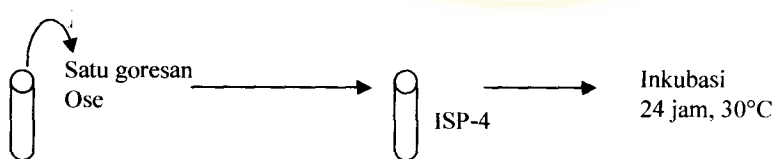
Pembuatan Media Nutrien Agar



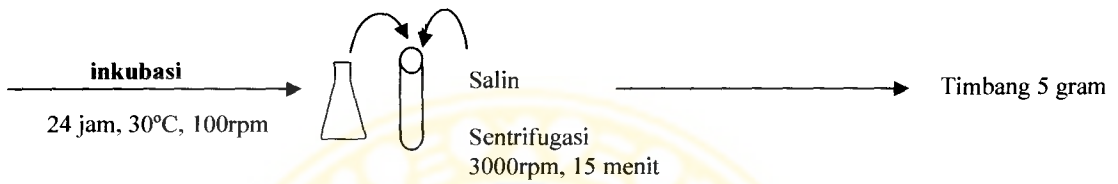
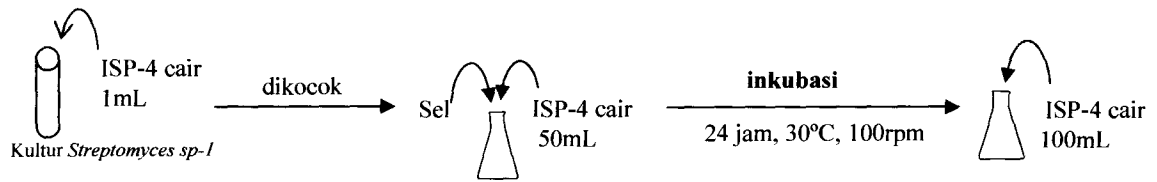
Pembuatan Media ISP-4



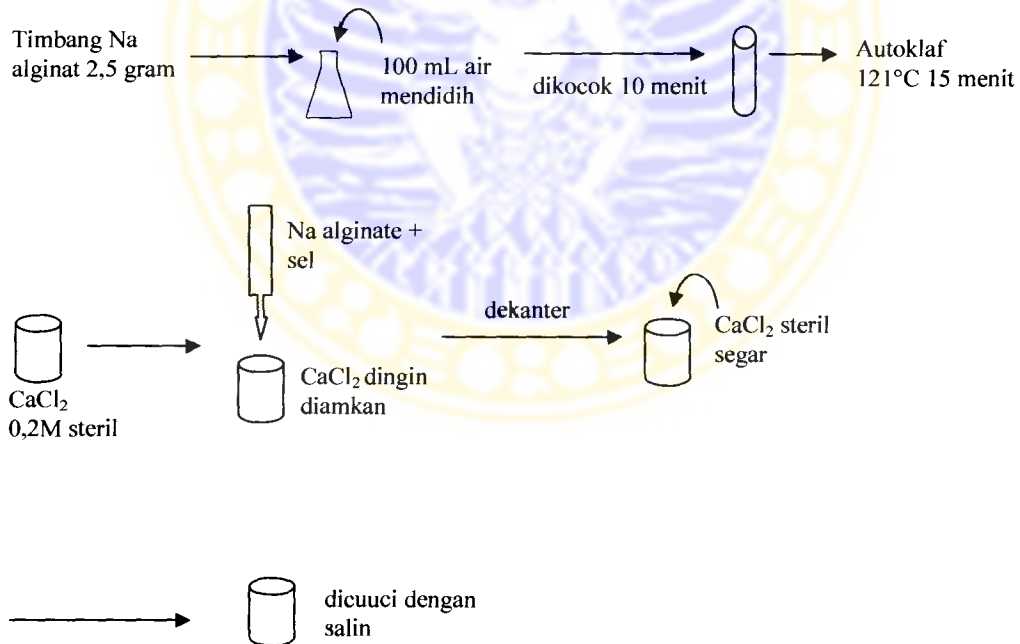
Pertumbuhan *Streptomyces sp-1*.



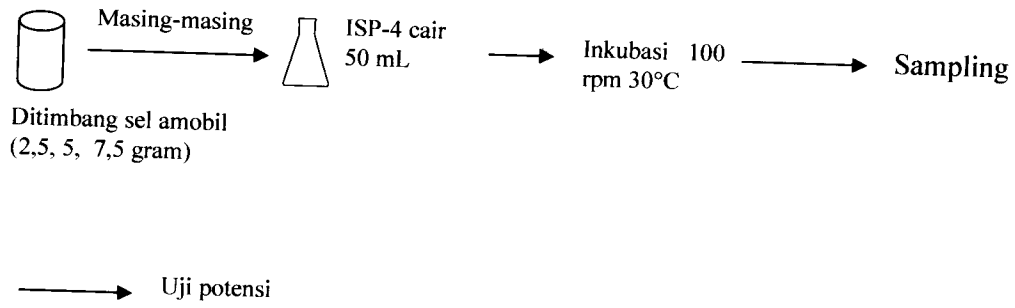
Perbanyakan sel



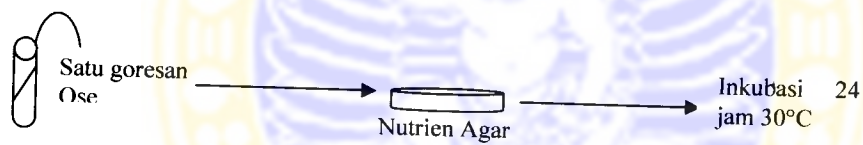
Amobilisasi sel



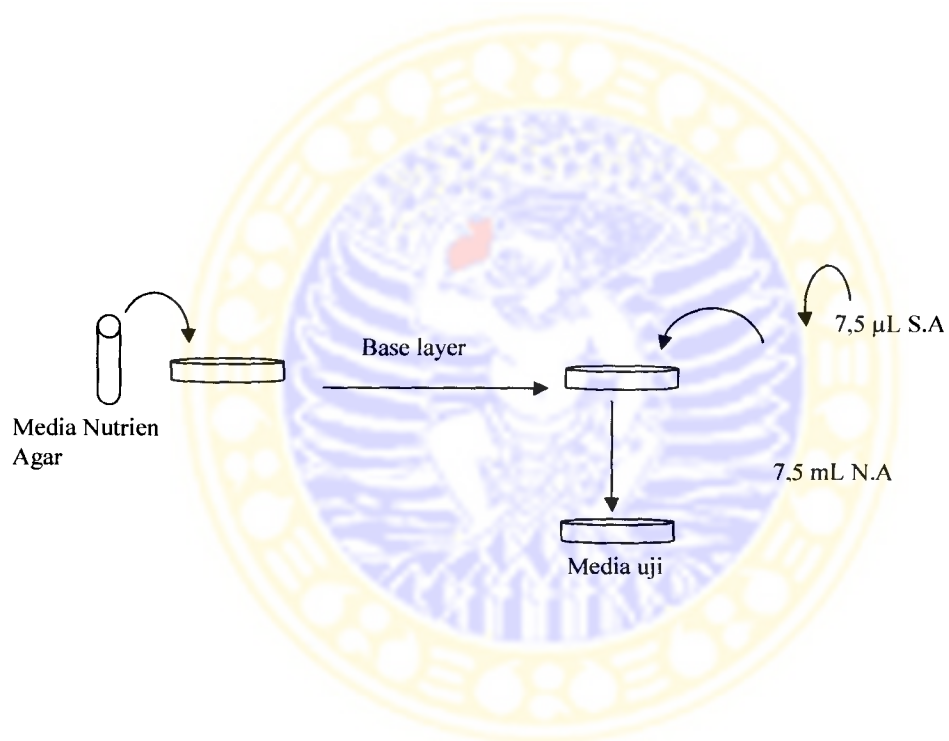
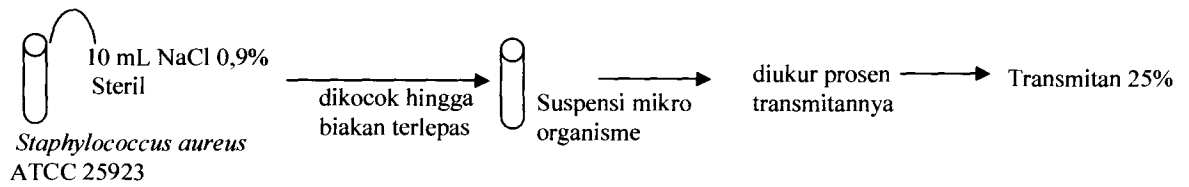
Fermentasi sel amobil



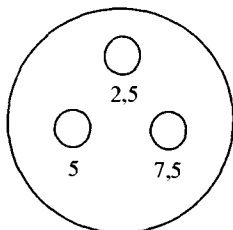
Uji Potensi Penyiapan Bakteri Uji



Penyiapan Media Pembenuhan



Uji Potensi



4.9 Analisa Data

Untuk mengetahui massa sel amobil optimal yang menghasilkan potensi maksimal dari *Streptomyces sp-1.*, maka dilakukan pengolahan data secara statistik dengan metode SPSS (*Statistical Product and Service Solution*) yaitu uji Anova Satu Arah (One Way) dengan derajat kepercayaan 95% atau tingkat signifikan $\alpha = 0,05$ yang dilanjutkan dengan uji korelasi. Uji Anova yang dilakukan dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidak adanya perbedaan bermakna antara perlakuan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai signifikan (*Significant Value*), jika nilai signifikan kurang dari 0,05 maka ada perbedaan bermakna antara kelompok perlakuan.

Dibuat grafik antara variasi massa sel dan potensi antibiotika, kemudian ditentukan hasil korelasi (r). Jika r hitung lebih besar dari r tabel dan F hitung lebih besar dari F tabel, maka dapat dinyatakan bahwa, ada hubungan linier antara massa sel dan potensi antibiotika. Potensi antibiotika dalam penelitian ini, diperoleh dari pengukuran diameter zona hambat dari masing-masing massa sel (2,5, 5, dan 7,5 gram) mulai hari ke-1 sampai hari ke-4. Pengukuran tersebut dilakukan sebanyak tiga kali replikasi.



Gambar 4.1 : Hubungan antara massa sel amobil dengan potensi antibiotika

Tabel 4.1 : Sampling dan uji potensi

Massa Sel Amobil	Hari Biakan	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
2,5 gram	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
5 gram	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
7,5 gram	1				
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Penyiapan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tiga macam yaitu: media ISP-4 padat, media ISP-4 cair dan media NA (*Nutrient Agar*). Media ISP-4 padat merupakan media pertumbuhan dan peremajaan *Streptomyces sp-1*. yang berwarna putih. Berbeda dengan media ISP-4 padat, media ISP-4 cair tidak menggunakan agar. Sehingga hanya terbentuk suspensi cair berwarna putih, yang berfungsi sebagai media fermentasi.

Media NA (*Nutrient Agar*) merupakan suatu media pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. bentuk dari media *Nutrien Agar* berupa padatan dengan warna kuning agak kecoklatan. Hal ini disebabkan oleh kandungan *Nutrien* yang berupa *Beef Extrac* dan pepton.

5.2 Pertumbuhan *Streptomyces sp-1*.

Pertumbuhan *Streptomyces sp-1*. dilakukan sesuai **prosedur 4.5**, dimana *Streptomyces sp-1*. ditanam di dalam media ISP-4 padat. Kemudian diperoleh suatu hasil pengamatan berupa koloni yang berwarna putih dan mempunyai bau yang khas menyerupai tanah. Pada hari pertama, pertumbuhan *Streptomyces sp-1*. sudah dapat diamati, walaupun jumlah koloni yang dihasilkan hanya sedikit. Hal ini menandakan bahwa pertumbuhan *Streptomyces sp-1*. pada media ISP-4 padat relatif cepat.

5.3 Perbanyak Sel

Perbanyak sel dilakukan sesuai **prosedur 4.4**, dimana *Streptomyces sp-1*. di masukkan kedalam media ISP-4 cair. Kemudian dilakukan pengamatan 3-4 hari, sehingga diperoleh hasil berupa suspensi yang berwarna kuning kecoklatan dengan bau yang khas menyerupai bau tanah.

5.4 Pertumbuhan Bakteri Uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dilakukan sesuai prosedur 4.8.1. Berdasarkan hasil pengamatan, pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam media Nutrien Agar merupakan koloni yang berwarna putih dan sedikit basah. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sudah dapat diamati pada hari pertama. Hal ini menandakan bahwa, pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 relatif cepat, walaupun jumlah koloni yang dihasilkan masih sedikit. Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 akan terlihat maksimal setelah pengamatan pada hari kedua dan ketiga.

5.5 Pembuatan Massa Sel Amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 Gram

Pembuatan massa sel *Streptomyces sp-1* amobil dimulai dengan menimbang 5 gram sel *Streptomyces sp-1* dari hasil perbanyakan. Sel kemudian disuspensikan homogen kedalam 20 mL larutan Na alginat steril. Suspensi yang terbentuk, selanjutnya di teteskan kedalam larutan CaCl_2 0,2 M steril yang dingin (suhu 4°C). Dalam hal ini tujuan penggunaan CaCl_2 dingin (4 °C) adalah untuk mempercepat terbentuknya manik-manik. Sehingga akan di hasilkan manik-manik yang berwarna putih kekuningan. Manik-manik yang terbentuk, kemudian ditimbang 2,5 ; 5 dan 7,5 gram.

5.6 Fermentasi *Streptomyces sp-1* Amobil

Fermentasi *Streptomyces sp-1* amobil dimulai dengan memasukkan 2,5, 5, dan 7.5 gram sel amobil masing-masing ke dalam erlenmeyer 250 mL yang berisi 50 mL media ISP-4 cair. Pada hari pertama hingga hari ketiga media fermentasi yang ada masih berwarna putih, tetapi pada hari ke empat mulai tampak adanya perubahan pada warna media fermentasi.

Perubahan warna yang tampak pada media fermentasi intensitasnya sebanding dengan kandungan sel amobil yang ada di dalamnya. Dimana media fermentasi yang mengandung 2,5 gram sel amobil menghasilkan warna kuning lebih muda dari media yang mengandung 5 gram sel amobil. Untuk media

yang mengandung 7,5 gram sel amobil akan menghasilkan warna kuning yang paling terang.

5.7 Uji Daya Hambat Antibiotika Hasil Fermentasi Sel Amobil

Sebelum dilakukan uji daya hambat terlebih dahulu disiapkan media pembenihan bakteri uji untuk uji potensi. Hasil dari media pembenihan bakteri uji berupa gel (agar) berwarna kuning kecoklatan yang terdiri dari dua lapisan (base layer dan side layer). Kandungan side layer terdiri dari *Nutrient agar* dan suspensi jernih bakteri uji yang telah diukur pada Transmittan 25%.

Uji daya hambat antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces sp-1* amobil dilakukan selama 8 hari (setelah sel amobil di fermentasikan selama 6 hari). Didalam **tabel 5.1** tampak bahwa rentang waktu pengukuran zona hambatan pada hari ke-1 hingga hari ke-4 setiap 24 jam, sedangkan pengukuran yang dilakukan antara hari ke-4 dan ke-7 mempunyai rentang waktu 48 jam . Uji tersebut dilakukan dengan mengukur diameter zona hambat pertumbuhan bakteri uji yang berupa daerah jernih di sekitar lubang sumur agar yang mengandung biakan *Streptomyces sp-1*. Seperti yang tersaji dalam **tabel 5.1**.

Tabel 5.1 : Data pengamatan diameter zona hambatan antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp-1* amobil dalam matrik Ca alginat dengan variasi massa sel 2.5 gram, 5 gram dan 7.5 gram.

Massa Sel Amobil	Hari Biakan	Diameter Zona Hambatan (mm)			Rata-rata
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
2.5 gram	1	17,56	18,48	16,21	17,42
	2	18,02	19,38	16,74	18,05
	3	18,52	20,73	17,64	18,96
	4	19,72	21,22	18,48	19,81
	7	19,74	21,23	18,50	19,82
	8	19,75	21,23	18,51	19,83
5 gram	1	18,32	19,02	17,02	18,12
	2	18,92	20,64	17,55	19,04
	3	20,14	21,41	18,52	20,02
	4	20,83	21,95	19,02	20,60
	7	20,83	22,00	19,04	20,62
	8	19,75	21,23	18,51	19,83
7,5 gram	1	18,51	20,18	17,15	18,61
	2	20,18	21,16	18,21	19,85
	3	21,48	22,73	20,12	21,44
	4	22,68	23,84	22,21	22,91
	7	22,68	23,86	21,22	22,59
	8	22,69	23,87	21,22	22,59

Berdasarkan **tabel 5.1** dapat diketahui bahwa, massa sel amobil 7,5 gram mempunyai rata-rata diameter zona hambatan yang lebih besar dari pada massa sel amobil 2,5 dan 5 gram. Dalam **tabel 5.1** tampak adanya nilai rata-rata yang relatif konstan antara hari ke 4 dan ke 8, hal ini dikarenakan pengukuran yang dilakukan pada hari ke 7 dan hari ke 8 digunakan untuk mengetahui kondisi dimana antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp-1* untuk menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sudah berada dalam fase

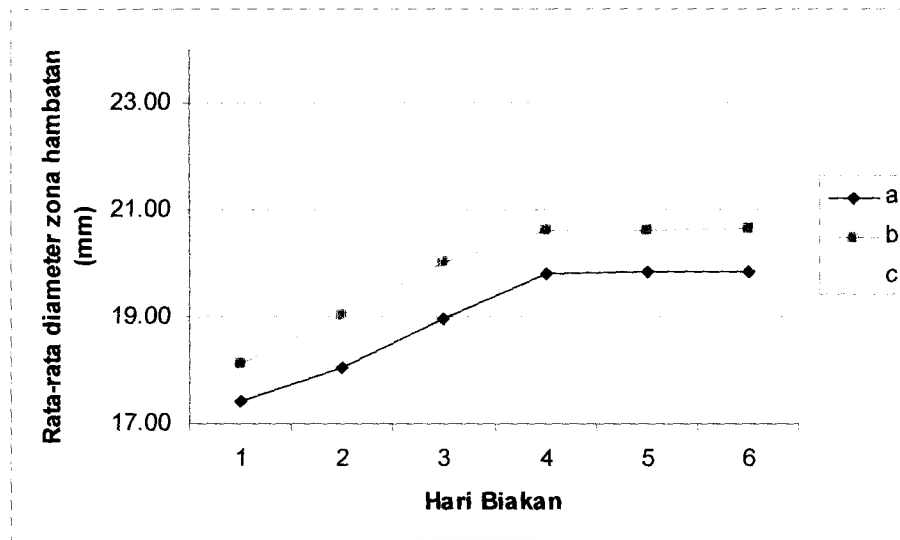
stasioner. Sehingga hasil rata-rata pengukuran pada hari ke-1 hingga hari ke-4 dapat ditentukan linieritasnya.

5.8 Profil Kurva Antibiotika Hasil Fermentasi

Profil kurva diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika dari fermentasi *Streptomyces sp-1* amobil pada berbagai variasi massa sel amobil terhadap pertumbuhan mikroba uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 disajikan pada **gambar 5.1**

Berdasarkan pada **gambar 5.1** dapat dilihat bahwa profil kurva yang dihasilkan oleh massa sel amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram adalah sama. Hal ini menandakan adanya hubungan antara data yang dihasilkan oleh massa sel amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram. Profil kurva untuk hari 1-4 tampak adanya peningkatan diameter zona hambatan yang menandakan bahwa, fermentasi *Streptomyces sp-1* pada kondisi tersebut sudah mampu menghasilkan antibiotika. Akan tetapi, pada hari ke-4 hingga hari ke-8 produksi antibiotika yang dihasilkan oleh *Streptomyces sp-1* mulai tampak relatif konstan.

Dalam **gambar 5.1** juga dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan rata-rata diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh massa sel amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram. Dimana rata-rata diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh massa sel amobil 7.5 gram lebih tinggi dari pada rata-rata diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh massa sel amobil 2.5 dan 5 gram.



Gambar 5.1 : Profil diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika terhadap hari biakan sel *Streptomyces sp-1* amobil

Keterangan : a : massa sel amobil 2.5 gram

b : massa sel amobil 5 gram

c : massa sel amobil 7.5 gram

5.9 Analisa Data

Analisa data yang dilakukan pada data hasil percobaan menggunakan metode SPSS dengan tiga uji, yaitu uji Korelasi, baik kualitatif maupun kuantitatif, serta uji Anova One Way. Dalam penelitian ini uji korelasi secara kualitatif dilakukan untuk mengetahui adanya hubungan antara diameter zona hambatan dan hari biakan *Streptomyces sp-1*. Pada uji Anova One Way, data yang diperoleh dari beberapa kali pengukuran diameter zona hambatan pada hari yang sama di rata-rata berdasarkan besar massa sel amobil yang telah ditentukan (2,5 ; 5 dan 7,5 gram). Rata-rata yang diperoleh kemudian dibandingkan seperti yang terlihat dalam **tabel 5.2**, sehingga dapat dilakukan uji- uji berikutnya. Untuk melakukan uji korelasi kuantitatif maka dibuat regresi linier. Hal ini digunakan untuk mengetahui adanya hubungan antara massa sel amobil *Streptomyces sp-1* dengan potensi antibiotika yang dihasilkan.

Dalam penelitian ini tidak semua hasil pengukuran diameter zona hambatan digunakan untuk analisa regresi, melainkan hasil pengukuran pada hari ke-1 hingga ke-4. karena pada hari tersebut pertumbuhan *Streptomyces sp-1* masih berada dalam fase pertumbuhan. Sehingga hasil pengukuran diameter zona hambatan dapat diregresi.

5.9.1 Uji Korelasi Antara Diameter Zona Hambatan dan Hari Biakan *Streptomyces sp-1*.

Uji korelasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya hubungan antara diameter zona hambatan dengan hari biakan *Streptomyces sp-1*. Diameter zona hambatan yang digunakan dalam analisa data adalah hari ke-1 hingga hari ke-4. Hal ini dikarenakan profil diameter zona hambatan yang diperoleh pada hari ke-5 hingga ke-8 berbentuk stasioner.

A. Penggunaan sel amobil 2.5 gram

Untuk menentukan korelasi antara data hasil pada masing-masing variabel di dalam perlakuan dari penggunaan sel amobil 2.5 gram, maka dibuat suatu hipotesa uji, dimana :

$$H_0 : R.1 = 0$$

$$H_1 : R.1 \neq 0$$

Hipotesa yang dibuat bertujuan untuk membantu memudahkan menentukan kesimpulan dalam uji statistik.

Kemudian dilakukan uji korelasi dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan diperoleh nilai P ($P = 0.006$). Karena nilai $P < \alpha (0,05)$, maka tolak H_0 . Sehingga dapat disimpulkan, bahwa terdapat korelasi antara R.1 dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan lampiran (4) maka dibuat suatu regresi linier yaitu, $Y = 0.842X + 17.340$ dengan nilai $r = 0.989$.

Hal ini juga sesuai dengan analisa data yang menggunakan perbandingan antara nilai r yang diperoleh dari perhitungan dengan nilai r tabel. Dari perhitungan diperoleh nilai r ($r = 0.995$) sedangkan nilai dari r tabel ($r_{table} = 3, \alpha = 0,05$) sebesar 0,878. Karena nilai r hitung $>$ r tabel maka dapat dinyatakan

bahwa, terdapat hubungan antara rata-rata diameter zona hambatan dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

B. Penggunaan sel amobil 5 gram

Hipotesa yang digunakan untuk menentukan korelasi antara data pada masing-masing variabel dalam perlakuan menggunakan sel amobil 5 gram adalah :

$$H_0 : R.2 = 0$$

$$H_1 : R.2 \neq 0$$

Kemudian dilakukan uji korelasi dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan diperoleh nilai P ($P = 0.03$). Karena nilai $P_value < \alpha (0,05)$, maka tolak H_0 . Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi antara R.1 dengan perlakuan lain. Berdasarkan lampiran (5) maka dibuat suatu regresi linier yaitu, $Y = 0.808X + 16.540$ dengan nilai $r = 0.995$.

Hal ini juga sesuai dengan analisa data yang menggunakan perbandingan antara nilai r yang diperoleh dari perhitungan dengan nilai r tabel. Dari perhitungan diperoleh nilai r ($r = 0.989$) dan nilai sedangkan nilai dari r tabel ($r_{table} = 3, \alpha = 0,05$) sebesar 0,878. Karena nilai r hitung $> r$ tabel maka dapat dinyatakan bahwa, terdapat hubungan antara rata-rata diameter zona hambatan dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

C. Penggunaan sel amobil 7.5 gram

Hipotesa yang digunakan untuk menentukan korelasi antara data pada masing-masing variabel dalam perlakuan menggunakan sel amobil 7,5 gram adalah :

$$H_0 : R.3 = 0$$

$$H_1 : R.3 \neq 0$$

Dilakukan uji korelasi dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan didapat nilai P ($P = 0,01$). Karena nilai $P < \alpha (0,05)$, maka tolak H_0 . Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat korelasi antara R.1 dengan perlakuan lain. Berdasarkan lampiran (6) maka dibuat suatu regresi linier yaitu, $Y = 1.449X + 17.080$ dengan nilai $r = 0.998$.

Hal ini juga sesuai dengan analisa data yang menggunakan perbandingan antara nilai r yang diperoleh dari perhitungan dengan nilai r tabel. Dari perhitungan diperoleh nilai r ($r = 0.998$) dan nilai sedangkan nilai dari r tabel ($dB = 3, \alpha = 0,05$) sebesar $0,878$. Karena nilai r hitung $> r$ tabel maka dapat dinyatakan bahwa, terdapat korelasi antara rata-rata diameter zona hambatan dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Untuk mengetahui adanya korelasi yang paling baik, yang dalam hal ini juga menandakan adanya korelasi yang tinggi antara rata-rata diameter zona hambatan dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, maka dapat dilihat nilai r yang paling tinggi dari ketiga perlakuan (massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram). Dari analisa data diperoleh bahwa massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 7.5 gram mempunyai nilai r yang paling tinggi.

5.9.2 Uji Anova Untuk Mengetahui Ada Perbedaan Potensi Antara Massa Sel Amobil *Streptomyces* sp-1 2,5 ; 5 dan 7,5 gram

Uji Anova dilakukan dengan membuat rata-rata antara diameter zona hambatan replikasi 1, 2, dan 3 pada hari yang sama masing-masing massa sel amobil. Sebelum melakukan uji Anova, maka ditentukan suatu hipotesis statistik yaitu :

$$H_0 : \mu_a = \mu_b = \mu_c = 0$$

$$H_1 : \mu_a \neq \mu_b \neq \mu_c$$

Kemudian dilakukan uji statistik dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Dari tabel 5.2 diperoleh nilai P yang kurang dari $0,05$, yang ditandai dengan adanya tanda bintang.

Karena nilai $P < \alpha$ ($0,05$), maka tolak H_0 . Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata antara A, B, C.

Tabel 5.2 : Uji Anova One Way diameter zona hambatan massa sel amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram.

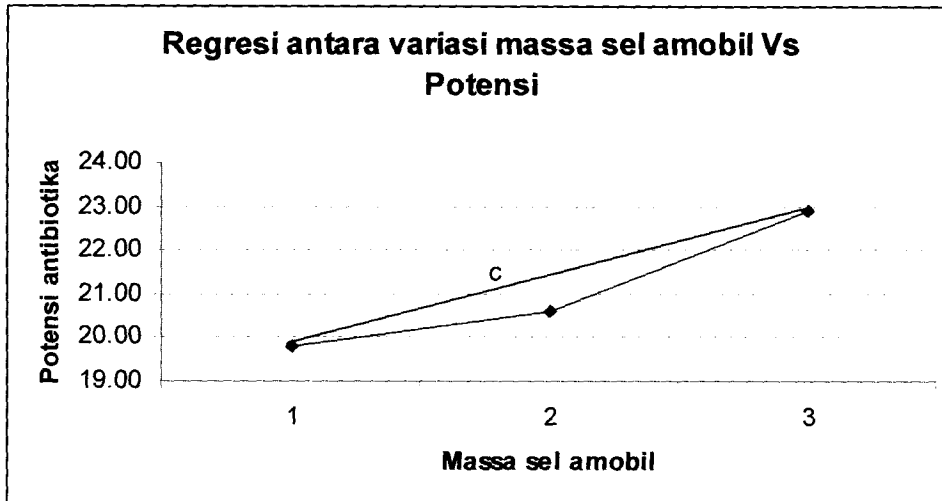
Dependent Variable: DIAMETER
Tukey HSD

(I) MASA	(J) MASA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2.5	5.0	-.7233	.75123	.030	-2.6746	1.2280
	7.5	-2.3500(*)	.75123	.018	-4.3013	-.3987
5.0	2.5	.7233	.75123	.030	-1.2280	2.6746
	7.5	-1.6267	.75123	.110	-3.5780	.3246
7.5	2.5	2.3500(*)	.75123	.018	.3987	4.3013
	5.0	1.6267	.75123	.110	-.3246	3.5780

* Mean difference is significant at .05 ...

5.9.3. Regresi Linier Hubungan Antara Variasi Massa Sel Amobil *Streptomyces sp-1* dengan Hari Biakan.

Data diameter zona hambatan yang digunakan dalam regresi linier adalah rata-rata diameter zona hambatan hari ke-4 pada masing-masing massa sel amobil *Streptomyces sp-1*. Hal ini bertujuan untuk mengetahui kondisi diameter zona hambatan terbesar dari massa sel amobil 2,5; 5 ; dan 7,5 gram.



Gambar 5.2 : Hubungan antara massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil dengan potensi antibiotika

Dari kurva hubungan antara massa sel amobil *Streptomyces* sp-1 dengan potensi antibiotika diperoleh bahwa massa sel 7,5 gram mempunyai potensi yang paling besar. Persamaan regresi dari hubungan antara massa sel amobil dengan potensi pada **gambar 5.2** adalah $Y = 0,620X + 18,007$ dengan $r = 0,926$

BAB VI

PEMBAHASAN

Streptomyces merupakan suatu bakteri yang mampu menghasilkan antibiotika, terutama aminoglikosida. Oleh sebab itu, banyak dari peneliti yang menggunakan bermacam jenis *Streptomyces* yang berasal dari beberapa galur, baik galur resmi maupun galur lainnya. Hal ini bertujuan untuk mengembangkan penelitian mengenai antibiotika, terutama golongan aminoglikosida. Dalam penelitian ini, sel *Streptomyces sp-1* yang digunakan untuk memproduksi antibiotika bukan berupa sel bebas, melainkan sel yang telah di amobilkan. Hal ini bertujuan untuk meningkatkan densitas dari sel *Streptomyces sp-1*, sehingga produksi antibiotika meningkat. Peningkatan ini disebabkan oleh adanya peningkatan densitas sel yang mengakibatkan suplai makanan dan oksigen kedalam sel berkurang. Fungsi utama dari pengeluaran metabolit sekunder yang dalam hal ini berupa antibiotika yaitu untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel. Maka dengan semakin berkurangnya suplai makanan dan oksigen kedalam sel, sel *Streptomyces sp-1* akan meningkatkan pengeluaran metabolit sekunder.

Uji daya hambat antibiotika dilakukan untuk mengetahui aktivitas daya hambat antibiotika hasil fermentasi massa sel *Streptomyces sp-1* amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram dalam matrik kalsium alginat terhadap pertumbuhan mikroba uji Gram positif yang dalam penelitian ini diwakili oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Volume media fermentasi yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 50 μ L, hal ini di dasarkan pada penelitian sebelumnya, bahwa dengan menggunakan media fermentasi 50 μ L telah mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar sumur.

Uji daya hambat antibiotika dalam penelitian ini dilakukan selama 8 hari dan terbagi dalam 2 tahap. Pada tahap pertama (hari ke-1 hingga hari ke-4) pengukuran diameter zona hambat dilakukan untuk mengetahui fase logaritmic dari *Streptomyces sp-1* yaitu berupa peningkatan hasil pengukuran diameter

zona hambat. Dalam penelitian ini untuk menentukan regresi linier dibutuhkan suatu hasil pengukuran diameter zona hambat yang mempunyai profil kurva tidak relatif konstan. Artinya terdapat perbedaan hasil pengukuran diameter zona hambat yang cukup bermakna dalam satu perlakuan. Sedangkan pada tahap ke dua (hari ke-7 hingga hari ke-8) pengukuran diameter zona hambat dilakukan untuk mengetahui fase stasioner dari *Streptomyces sp-1*. Uji daya hambat dilakukan dengan cara mengukur daerah (zona) jernih di sekitar lubang sumur agar yang mengandung biakan *Streptomyces sp-1*. Daerah jernih tersebut menunjukkan bahwa antibiotika yang dihasilkan dari fermentasi *Streptomyces sp-1* dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Berdasarkan profil kurva diameter zona hambatan hasil uji daya hambat antibiotika terhadap pertumbuhan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 seperti terlihat pada gambar 5.1 diketahui bahwa massa sel *Streptomyces sp-1* amobil 7,5 gram dalam matriks Ca alginat menghasilkan diameter zona hambatan yang lebih besar dari pada diameter zona hambatan yang dihasilkan oleh massa sel *Streptomyces sp-1* amobil 2,5 dan 5 gram. Ini menunjukkan bahwa massa sel amobil dapat mempengaruhi produksi antibiotika yang menggunakan metode amobilisasi sel. Dalam hal ini peningkatan massa sel amobil akan diikuti pula dengan adanya peningkatan diameter zona hambatan yang dihasilkan, sehingga dapat dikatakan bahwa adanya hubungan yang sebanding antara massa sel amobil dengan diameter zona hambat yang dihasilkan. Seperti yang telah dilaporkan oleh Ratna Siri (1986) bahwa semua bakteri membutuhkan nutrisi untuk pertumbuhannya, maka hubungan yang dihasilkan oleh massa sel amobil dan diameter zona hambatan dapat disebabkan oleh beberapa faktor, yaitu adanya peningkatan densitas sel, terbatasnya persediaan nutrisi, dan terbatasnya persediaan oksigen. Hal ini juga sesuai dengan laporan yang telah dibuat oleh Chibata et al (1996), bahwa variasi masa sel dapat mempengaruhi jumlah produk yang dihasilkan.

Antibiotika merupakan suatu metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme (bakteri) yang dalam kadar yang kecil (minimal) dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain. Tujuan dari

pengeluaran metabolit sekunder oleh bakteri adalah untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya. Dalam hal penelitian ini digunakan variasi massa sel amobil yang bertujuan untuk mengatur masuknya (asupan) nutrisi ke dalam sel. Sehingga dengan terbatasnya asupan nutrisi ke dalam sel, sel akan berusaha untuk mempertahankan hidupnya dengan jalan selalu mengeluarkan metabolit sekunder. Semakin besar massa sel amobil maka semakin besar pula nutrisi yang dibutuhkan. Akan tetapi dalam penelitian ini, jumlah nutrisi yang diterima oleh masing-masing sel amobil adalah sama sehingga akan terjadi kompetisi untuk mendapatkan nutrisi pada masing-masing massa sel amobil. Dimana kompetisi terbesar berada pada jumlah massa sel amobil yang terbesar yaitu 7,5 gram, hal ini juga akan mendorong terbentuknya metabolit sekunder (antibiotika) yang lebih banyak pada fermentasi sel *Streptomyces sp-1* amobil 7,5 gram.

Hasil fermentasi sel amobil juga dapat dipengaruhi oleh adanya pertumbuhan sel yang ada pada permukaan sel amobil. Maka untuk meminimalkan pengaruh pertumbuhan sel yang berada di luar sel amobil maka dilakukan pencucian sel amobil sebanyak tiga kali dengan salin, sebelum sel dimasukkan ke dalam media fermentasi. Tujuan dari penggunaan media salin untuk pencucian sel amobil adalah untuk menghindari rusaknya matrik Ca alginat yang dapat menyebabkan terjadinya kebocoran sel.

Uji statistik yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan tiga uji yaitu, uji Anova One Way, uji korelasi dan uji regresi. Uji Anova dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan bermakna dari hasil pengukuran diameter zona hambatan antara massa sel amobil, sedangkan uji korelasi digunakan untuk mengetahui adanya korelasi (hubungan) antara diameter zona hambatan antibiotika dengan hari biakan *Streptomyces sp-1*. regresi linier yang dilakukan dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya hubungan antara massa sel amobil dengan potensi antibiotika. Dalam penelitian ini tidak semua data hasil pengukuran diameter zona hambatan digunakan dalam analisa data. Hal ini dikarenakan terdapat data hasil pengukuran diameter zona hambatan yang memiliki profil kurva yang relatif konstan yaitu pada pengukuran diameter zona hambatan hari ke-7 dan ke-8. Sehingga akan

menimbulkan kesulitan jika data tersebut digunakan dalam uji korelasi (regresi linier). Derajat kepercayaan yang digunakan pada data diameter zona hambatan hasil fermentasi massa sel *Streptomyces sp-1* amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram dalam matrik Ca alginat adalah 95% atau nilai signifikan $\alpha = 0,05$.

Berdasarkan uji yang dilakukan dengan metode Anova (One Way), diperoleh nilai $P = 0,030 ; 0,018$ dengan $\alpha = 0,05$. Karena nilai P pada masing-masing kelompok perlakuan $< \alpha = 0,05$ maka dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok perlakuan. Untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai korelasi paling baik, maka dilakukan uji korelasi antara rata-rata diameter zona hambatan dengan hari biakan *Streptomyces sp-1* pada masing-masing kelompok massa sel amobil dengan cara dibuat regresi liniernya. Kemudian diambil nilai r yang paling besar dari masing-masing nilai r . Nilai r yang paling besar diperoleh dari kelompok massa sel *Streptomyces sp-1* 7,5 gram, hal ini berarti bahwa korelasi antara rata-rata diameter zona hambatan dengan pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam kelompok massa sel *Streptomyces sp-1* amobil 7,5 gram adalah yang lebih baik dari pada kelompok lainnya. Dalam uji korelasi pada penelitian ini juga terlihat, bahwa terjadi peningkatan yang sebanding antara diameter massa sel *Streptomyces sp-1* amobil dengan nilai r . Hal ini sesuai dengan penjelasan di atas bahwa besarnya massa sel *Streptomyces sp-1* amobil berpengaruh pada potensi antibiotika yang dihasilkan karena terkait dengan kebutuhan nutrisi dan oksigen dalam sel yang diamobilkan.

Dalam penelitian massa sel amobil 7,5 gram mempunyai potensi antibiotika yang paling besar. Hal ini disebabkan oleh keterbasan nutrisi yang dapat masuk ke dalam sel. Sehingga sel akan berusaha untuk mempertahankan kelangsungan hidupnya, salah satu cara yang digunakan adalah dengan memproduksi metabolit sekunder (berupa antibiotika)

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Ada pengaruh variasi massa sel amobil dengan potensi antibiotika yang ditandai dengan perbedaan potensi antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces sp-1* amobil dalam matrik Ca alginat.
2. Massa sel amobil yang menghasilkan antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces sp-1* paling besar dari massa sel amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram adalah 7,5 gram.

7.2 Saran

Penelitian ini hanya menguji potensi antibiotika hasil fermentasi *Streptomyces sp-1* amobil yang belum diketahui pasti jenis antibiotikanya. Oleh sebab itu pada penelitian selanjutnya perlu disarankan :

1. Untuk menghasilkan potensi antibiotika yang besar maka digunakan massa sel amobil yang besar pula.
2. Karena adanya hubungan yang sebanding antara massa sel amobil dan potensi antibiotika maka Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui besarnya massa sel amobil maksimal yang masih bisa menghasilkan antibiotika.
3. perlu dilakukan identifikasi antibiotika yang dihasilkan *Streptomyces sp-1* amobil dalam matrik Ca alginat.

DAFTAR PUSTAKA

- Panitia Farmakope Indonesia., 1995. **Farmakope Indonesia**. Edisi IV, Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, hal. 841-850
- Atlas, R. M., 1946. **Handbook of Microbiological Media**, Second Ed, USA : Macmillan Publishing Company , pp 702-704
- Bergeys., 1992. **Manual of Determination Bacteriology**, 12th ed, Baltimore, William Wilkins Co, pp. 747-840
- Beshay, U., 2003. Production of Alkaline Protease by *Teredinobacter turnirae* Cells Immobilizes in Ca-alginate beads, **African Journal of Biotechnology**, vol 2 (3), pp. 60-65, available online at <http://www.academicjournals.org/AJB>, 20 Desember 2004
- Brock, D.T., et all, 1994, **Biology of Microorganism**, Seventh edition, USA : Prentice Hall.
- Chibata, I., 1978. **Immobilized Enzymes Research and Development**. Tokyo: John Wiley and Sons, New York, pp. 9-15
- Chibata, I., Tosa, T., and Sato, T., 1996. **Methods of Cell Immobilization**. Tokyo, pp 218-221.
- Dwidjoseputro., 1987. **Dasar-dasar Mikrobiologi**, cetakan ke-9, Jakarta : Djambatan, hal. 36-137
- 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
- Goodman and Gilman. A., 1970. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**, Fourth Edition, London, The Mcmillan Company, Colliermacmillan Limited, pp 87-94
- Hotta, K., Yoshida, M., Hamada, M., and Okami, Y., 1980. Studies on New Aminoglycoside Antibiotics, Istamycin, from Actinomycetes Isolated from A marine Environment, **The Journal of Antibiotics**, vol 33, pp. 1515-1520

- Hotta, K., Ishikawa, J., 1988. Strain and Species Distribution of The Streptomycin Gene Cluster and Kan-related Sequences in *Streptomyces griseus*. **The Journal of Antibiotics**, vol 32, hal 116-1121
- Jawetz, Ernest, 1984. **Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan**, Edisi 16, Jakarta : ECG Penerbit Buku Kedokteran , hal 98-106
- Jawetz., Melnick., and Adelberg., 2001. **Mikrobiologi Kedokteran**, Edisi Pertama, Jakarta : Salemba Medika, hal 69
- Kolmer, J. A., 1947. **Penicillin Therapy Including Streptomycin, Thyrothricin and Other Antibiotik Therapy**, 2nd Ed., New York, The Appleton century company, pp. 271
- Marwick, J., Wright, P and Burgess, G., 1999. **Bioprocess Intensification for Production of Novel Marine Anitibiotics Through Bioreactor Operation and Design**. Marine Biotechnology, Springer-Verlag New York Inc, pp. 495-507
- Nedovic, A. V., Cukavolik, I.L., and Novacovik G. V., Immobilized Cells Technology (ICT) in Beer Fermentation, <http://www.rcub.bg.ac.yu/todorom/tutorials/rad15.html>, 25 Januari 2005
- Pelczar, M., 1988. **Dasar-dasar Mikrobiologi**, alih bahasa : Ratna Siri. Jilid 2, Jakarta : Universitas Indonesia Press, hal. 124, 191, 955
- Poernomo, A.T., 1997. *Streptomyces griseus* ATCC 19137 Amobil dan Karakter Proteasnya. **Tesis**, Yogyakarta, UGM, hal 14-20, 56
- Isnaeni, 1998. Mutasintesis Antibiotika Mutan *Streptomyces griseus* ATCC 10137, **Disertasi**, Bandung, ITB, hal. 43-45
- Siswandono dan Soekarjo, B., (Eds), 2000. **Kimia Medisinal 2**, Surabaya : Airlangga University Press, hal. 109.
- Srinivasulu, B., Adinarayana, K., and Ellaiah, P., 2003. Investigation on Neomycin Production With Immobilized Cells of *Streptomyces marinensis* NUV-5 in Calcium Alginate **Matrix**. *AAPS PharmSciTech* 2003; **4 (4) Article 57**, <http://www.aapspharmscitech.org>, 11 Januari 2005

Wattimena, J.R., dkk, 1991, **Farmakodinamik dan Terapi Antibiotika**, Yogyakarta : Gajah Mada University Press.

Zaenab, S., 2003. Uji Pendahuluan Perbandingan Potensi Antibiotika Hasil Fermentasi *Streptomyces griseus* ATCC 10137 pada pH Awal 7,5; 8,0 dan 8,5 dengan Suhu 28° C, 30° C dan 35° C Dalam Media Padat Yang Mengandung Ampas Tahu 2%. **Skripsi**, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya, hal 7, 11



LAMPIRAN 1

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 2

Komposisi media ISP-4

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 3

**Perhitungan Anova One Way Diameter Zona Hambatan Antara Massa Sel
Amobil 2,5 ; 5 dan 7,5 gram**

Oneway

ONEWAY Descriptives

DIAMETER

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
2.5	6	17.3817	1.04076	.42489	17.8895	20.0739	17.42	19.83
5.0	6	19.7050	.97031	.39613	18.6867	20.7233	18.12	20.62
7.5	6	21.3317	1.74771	.71350	19.4976	23.1658	18.61	22.91
Total	18	20.0061	1.58633	.37390	19.2172	20.7950	17.42	22.91

ONEWAY ANOVA

DIAMETER

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
Between Groups	17.384	2	8.692	5.134	.020
Within Groups	25.396	15	1.693		
Total	42.779	17			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DIAMETER

Tukey HSD

(I) MASA	(J) MASA	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Significance	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
2.5	5.0	-.7233	.75123	.030	-2.6746	1.2280
	7.5	-2.3500*	.75123	.018	-4.3013	-.3987
5.0	2.5	.7233	.75123	.030	-1.2280	2.6746
	7.5	-1.6267	.75123	.110	-3.5780	.3246
7.5	2.5	2.3500*	.75123	.018	.3987	4.3013
	5.0	1.6267	.75123	.110	-.3246	3.5780

*. Mean difference is significant at .05 ...

Homogeneous Subsets

DIAMETER

Tukey HSD ^a

MASA	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
2.5	6	17.3817	
5.0	6	19.7050	19.7050
7.5	6		21.3317
Significance		.310	.110

Means are displayed ...

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000

LAMPIRAN 4

**Perhitungan Regresi Diameter Zona Hambatan Hasil Uji Daya Hambat
Antibiotika Hari Biakan Sel Amobil *Streptomyces sp-1*
(2,5 Gram)**

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	VAR03 ^a	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: VAR03...

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.994 ^a	.989	.983	.14050

a. Predictors: (constant) R.3.

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
1	Regression	3.545	1	3.545	179.575	.006
	Residual	.039	2	.020		
	Total	3.584	3			

a. Predictors: (constant) R.1

b. Dependent Variable: VAR03...

Coefficients

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Significance
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	17.340	.172		100.770	.000
	VAR03	.842	.063	.994	13.401	.006

a. Dependent Variable: VAR03...

LAMPIRAN 5

Perhitungan Regresi Diameter Zona Hambatan Hasil Uji Daya Hambat Antibiotika Hari Biakan Sel Amobil *Streptomyces sp-1* (5 Gram)

Variables Entered/Removed^d

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	VAR03 ^a	.	Enter

- a. All requested variables entered.
b. Dependent Variable: VAR03...

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.997 ^a	.995	.992	.09455

- a. Predictors: (constant) R.2.

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
1	Regression	3.264	1	3.264	365.136	.003 ^a
	Residual	.018	2	.009		
	Total	3.282	3			

- a. Predictors: (constant) R.2.
b. Dependent Variable: VAR03...

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Significance
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	16.540	.116		142.831	.000
	VAR03	.808	.042	.997	19.109	.003

- a. Dependent Variable: VAR03...

LAMPIRAN 6

**Perhitungan Regresi Diameter Zona Hambatan Hasil Uji Daya Hambat
Antibiotika Hari Biakan Sel Amobil *Streptomyces sp-1*
(7,5 Gram)**

Variables Entered/Removed^a

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	VAR03 ^a	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: VAR03...

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.999 ^a	.998	.997	.11016

a. Predictors: (constant) R.3

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
1	Regression	10.498	1	10.498	865.101	.001 ^a
	Residual	.024	2	.012		
	Total	10.522	3			

a. Predictors: (constant) R.3.

b. Dependent Variable: VAR03...

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Significance
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	17.080	.135		126.597	.000
	VAR03	1.449	.049	.999	29.413	.001

a. Dependent Variable: VAR03...

LAMPIRAN 7

**Perhitungan Regresi Antara Variasi Massa Sel Amobil Dengan
Potensi Antibiotika**

Regression

Variables Entered/Removed^b

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	MASSA ^a	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: ZONA

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.962 ^a	.926	.852	.62054

a. Predictors: (constant) MASSA...

ANOVA^b

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Significance
1	Regression	4.805	1	4.805	12.478	.176 ^a
	Residual	.385	1	.385		
	Total	5.190	2			

a. Predictors: (constant) MASSA...

b. Dependent Variable: ZONA

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Significance
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	18.007	.948		18.997	.033
	MASSA	.620	.176	.962	3.532	.176

a. Dependent Variable: ZONA

LAMPIRAN 8
Tabel koefisien korelasi (r)

db \ P	r	
	0,05	0,01
1	0,997	1,000
2	0,960	0,990
3	0,878	0,959
4	0,811	0,917
5	0,754	0,874
6	0,707	0,834
7	0,666	0,798
8	0,632	0,765
9	0,602	0,735
10	0,576	0,708
11	0,553	0,684
12	0,532	0,661
13	0,514	0,641
14	0,497	0,623
15	0,482	0,606
16	0,468	0,590
17	0,456	0,575
18	0,444	0,561
19	0,433	0,549
20	0,423	0,567

Dikutip dari : Soedigdo, S. dan Soedigdo, P. 1977, *Pengantar Cara Statika Kimia*, Bandung, hal. 42

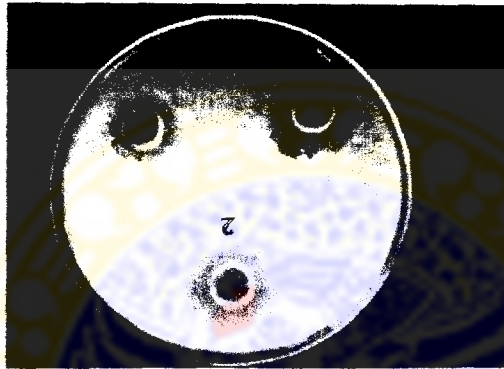
LAMPIRAN 9
Daftar table t

v	α				
	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005
1	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657
2	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925
3	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841
4	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604
5	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032
6	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707
7	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499
8	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355
9	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250
10	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169
11	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106
12	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055
13	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012
14	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977
15	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947
16	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921
17	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898
18	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878
19	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861
20	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845
21	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831
22	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819
23	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807
24	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797
25	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787
26	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779
27	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771
28	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763
29	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756
∞	1.287	1.645	1.960	2.326	2.576

Dikutip dari: Walpole, R.E., 1992, *Pengantar Statistika*, terjemahan, Edisi ke-3, Jakarta, PT. Gramedia Pustaka Utama, hal. 471.

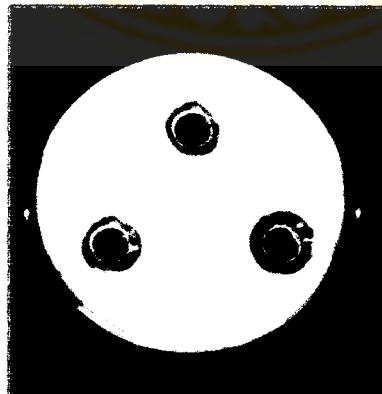
Diameter zona hambatan variasi sel *Streptomyces* sp-1 amobil hari ke-7 replikasi II

Keterangan. 1 : massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 7,5 gram
2 : massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 5 gram
3 : massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 2,5 gram



Diameter zona hambatan variasi sel *Streptomyces* sp-1 amobil pada hari ke-4 replikasi I

Keterangan. 1 : massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 7,5 gram
2 : massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 5 gram
3 : massa sel *Streptomyces* sp-1 amobil 2,5 gram

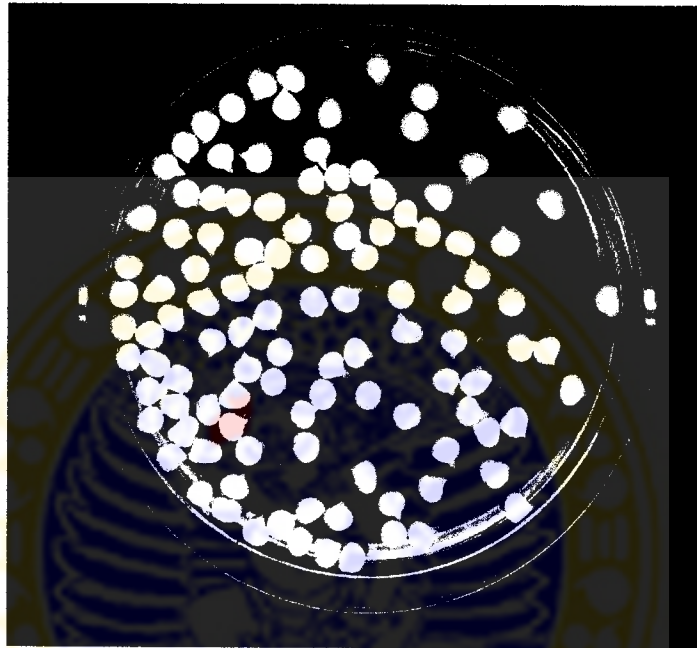


Gambar Variasi Diameter Zona Hambatan

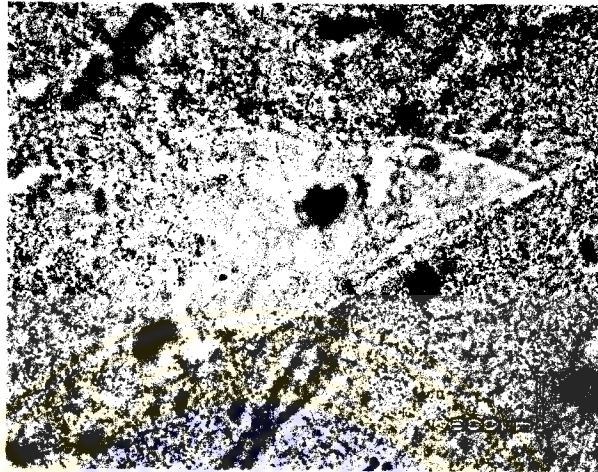
LAMPIRAN 10

LAMPIRAN II

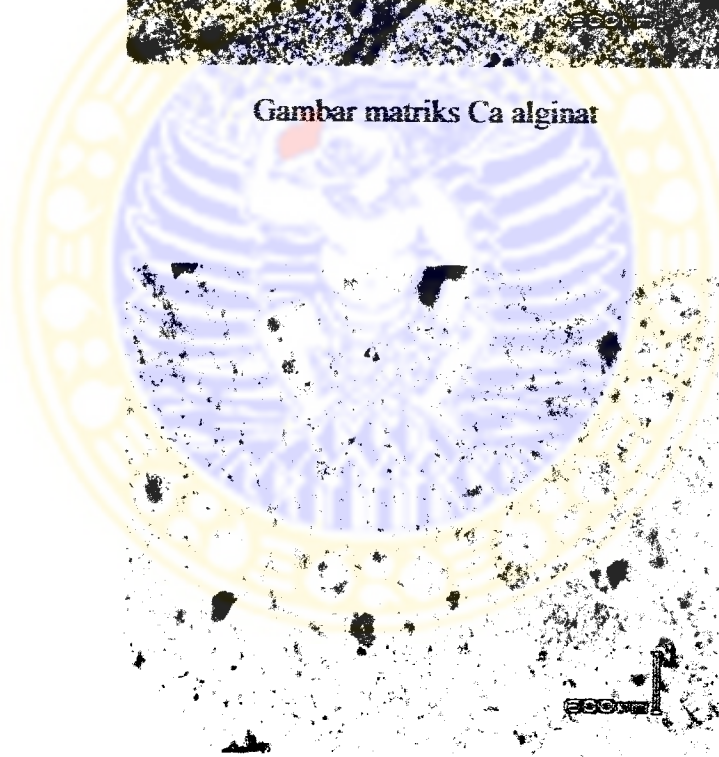
Gambar Manik-Manik Hasil Amobilisasi Sel *Streptomyces sp-1* Dalam Matriks Ca Alginat



LAMPIRAN 12
Gambar Bentuk Matrik Ca Alginat



Gambar matriks Ca alginat



Gambar sel *Streptomyces sp-1* yang terjebak dalam matriks Ca alginat

LAMPIRAN 13

Hasil Uji Biokimia terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



DEPARTEMEN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BALAI LABORATORIUM KESEHATAN SURABAYA



Jl. Karangmenjangan No. 18 - Surabaya 60285
Telp. Kepala Lab. (031) 5020708 - T.U. (031) 5021451 - Fax (031) 5020388, 5021452
E-mail : blksub@idola.net.id

Surabaya, 05 Oktober 2005

Hasil Uji Biokimia terhadap bakteri :

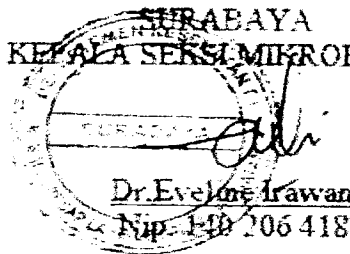
- *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923)

No	Macam-macam uji	Staph aureus (ATCC 25923)
1.	Mannitol	+
2.	D Nase	+
3.	Coagulase	+
4.	Haemolysis	B
5.	Pigment	Kuning keemasan
6.	Pengecatan gram	Gram pos coccus

BALAI BESAR LABORATORIUM KESEHATAN

SURABAYA

KEPALA SEKSI MIKROBIOLOGI



Dr. Eveline Irawan

Nip. 140 206 418

Lampiran 14

Sertifikat *Streptomyces sp - 1*



**LABORATORIUM BIOLOGI LINGKUNGAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Kampus C, Jl Mulyorejo, Surabaya 60115, Indonesia
Tel (031) 5936501, Fax (031) 5936502

SURAT KETERANGAN

Bahwa sample Isolat 1 milik Dra. Wiwin Retnowati, MS adalah *Streptomyces sp. 1*.

Surabaya, 8 Pebruari 2006
Kalab Lingkungan.

Pemeriksa,

Dr. Ir. Agoes Soegianto, DEA
NIP. 131756000

Drs. Agus Supriyanto, M.Kes.
NIP131836629