



**PRODUKSI ANTIBIOTIK YANG MENGHAMBAT *Candida albicans*  
OLEH ISOLAT ACTINOMYCETES L18  
PADA MEDIA EKSTRAK JAGUNG**

Asal :	Hadiah	Klass
	Pembelian	S74.19
Terima :	07-NOV 2007	ULU
SKRIPSI		P
Pengatalog :	SKS	

S  
C.1

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat-syarat  
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)  
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh :

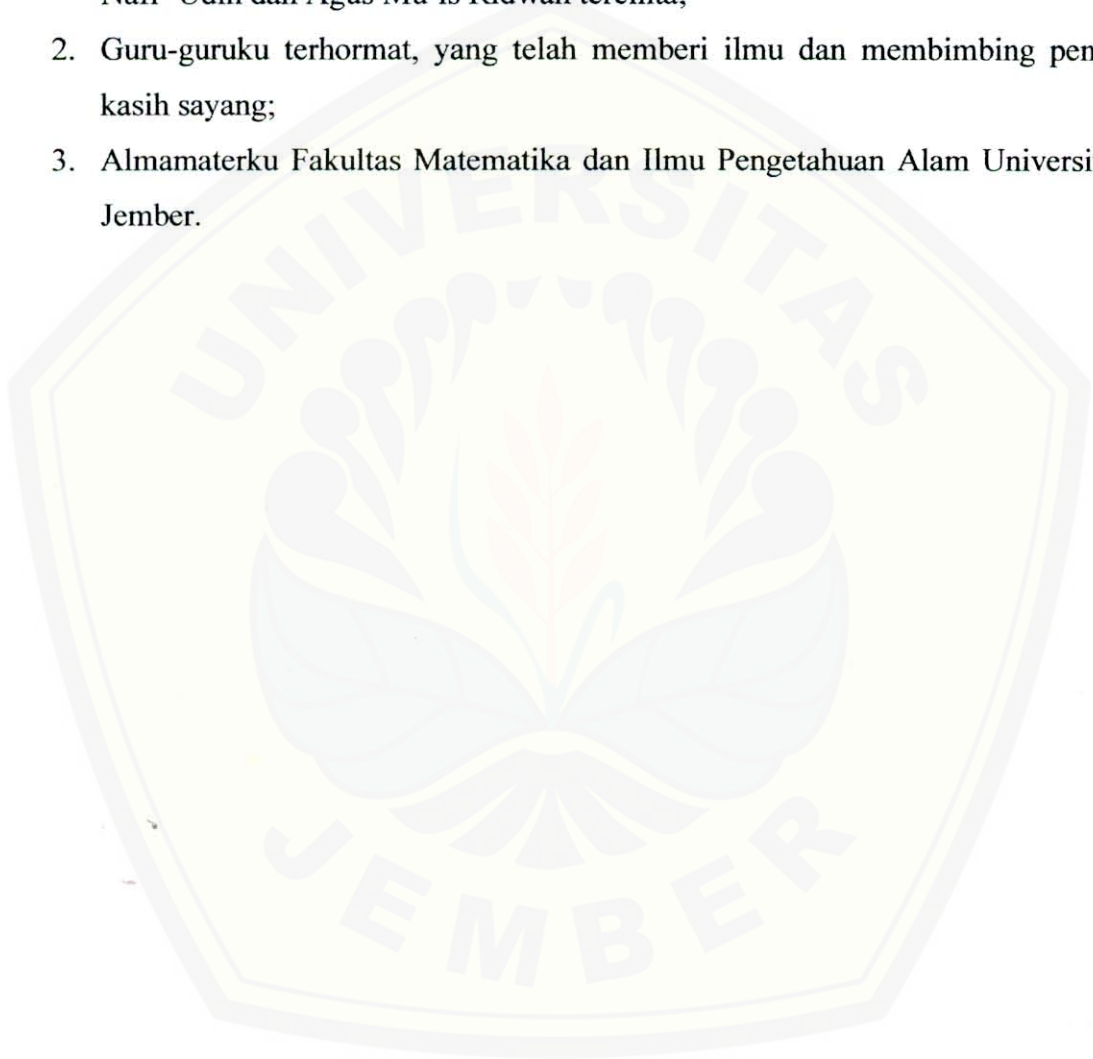
**Fuad Bahrul Ulum**  
**NIM 031810401025**

**JURUSAN BIOLOGI**  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
**UNIVERSITAS JEMBER**  
**2007**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Siti Surya dan Ayahanda Ali Shofwan serta Adik-adikku M. Hadi Nafi' Udin dan Agus Mu'is Ridwan tercinta;
2. Guru-guruku terhormat, yang telah memberi ilmu dan membimbing penuh kasih sayang;
3. Almamaterku Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.



## MOTTO

Dan tanah yang baik, tanaman-tanamannya tumbuh subur dengan seizin Allah; dan tanah yang tidak subur, tanaman-tanamannya hanya tumbuh merana. Demikianlah Kami mengulangi tanda-tanda kebesaran bagi orang-orang yang bersyukur.  
(*Terjemahan Surat Al-A'raf Ayat 58*)<sup>\*)</sup>

Ditengah gurun yang tertebak, jadilah salju abadi. Embun pagi tak akan kalahkan dinginmu, angin malam akan menggigil melewatimu. Dan setiap senti gurun akan terinspirasi karena kau berani beku dalam neraka, kau berani putih meski sendiri, karena kau....berbeda.<sup>\*\*)</sup>

- 
- <sup>\*)</sup> Departemen Agama Republik Indonesia. 1998. *Al-Quran dan Terjemahannya*. Semarang: PT. Kumudasmoro Grafindo.
- <sup>\*\*)</sup> Dee. 2006. *Filosofi Kopi*. Jakarta: Truedee Books & Gagas Media.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Fuad Bahrul Ulum

Nim : 031810401025

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul: *Produksi Antibiotik yang Menghambat Candida albicans oleh Isolat Actinomycetes L18 pada Media Ekstrak Jagung* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebut sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 5 Oktober 2007  
Yang menyatakan,



**Fuad Bahrul Ulum**  
**NIM 031810401025**

## RINGKASAN

*Produksi Antibiotik yang Menghambat Candida albicans oleh Isolat Actinomycetes L18 pada Media Ekstrak Jagung*; Fuad Bahrul Ulum, 031810401025; 2007; 35 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Isolat actinomycetes L18 berpotensi sebagai penghasil antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen yang dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi dan pertanian. Pemanfaatan isolat actinomycetes hasil eksplorasi dari alam agar produksi antibiotik yang dihasilkan meningkat maka perlu dikaji kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya dengan menguji kesesuaian suatu jenis media produksi untuk produksi massal dan produksi antibiotik. Jagung merupakan salah satu komoditas pertanian Indonesia yang digunakan sebagai bahan baku industri. Hasil samping pengolahan jagung telah dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikrob dalam industri kertas dan farmakologi. Salah satu golongan mikrob yang mampu menghasilkan antibiotik pada substrat yang mengandung limbah cair pengolahan jagung adalah actinomycetes. Pada penelitian ini isolat actinomycetes L18 diuji produksi antibiotik ekstrak kasar pada media ekstrak jagung yang ditambahkan NaCl dan CaCO<sub>3</sub>.

Penelitian ini bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan bulan Agustus 2007. Biakan yang diuji adalah isolat actinomycetes L18 dan sebagai jamur indikator yaitu *C. albicans*. Prosedur penelitian meliputi pembuatan media ekstrak jagung, peremajaan biakan, pengamatan pola pertumbuhan isolat actinomycetes L18 dan aktivitas hambatan antibiotik ekstrak kasar dalam ekstrak kulturnya selama pertumbuhan dalam media ekstrak jagung.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa spora isolat actinomycetes L18 yang diinokulasikan pada media ekstrak jagung setelah diinkubasi dengan agitasi 110 rpm dan suhu 30<sup>0</sup> C mengalami pertumbuhan menjadi bola-bola misellia yang berwarna putih kekuningan. Hasil pengukuran biomassa isolat actinomycetes L18 yang ditumbuhkan pada media ekstrak jagung menunjukkan pola pertumbuhan seperti pada bakteri lainnya. Akan tetapi sampai akhir inkubasi 192 jam, pertumbuhan isolat tersebut hanya menunjukkan fase adaptasi dan fase eksponensial saja. Hasil uji penghambatan antibiotik ekstrak kasar yang diperoleh dari cairan media pertumbuhan isolat actinomycetes L18 terhadap *C. albicans* menunjukkan antibiotik yang bersifat membunuh jamur dihasilkan pada inkubasi 168 jam, sedangkan pada inkubasi sebelum dan sesudah 168 jam antibiotik yang dihasilkan bersifat menghambat pertumbuhan saja. Berdasarkan pola pertumbuhan antibiotik diproduksi sejak fase adaptasi dan berlanjut selama fase eksponensial secara fluktuatif. Berdasarkan hasil uji titer antibiotik isolat actinomycetes L18 pada media ekstrak jagung didapatkan bahwa nilai titer aktivitas antibiotik ekstrak kasar tersebut adalah sebesar 10.240 AU/ml.

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul *Produksi Antibiotik yang Menghambat Candida albicans oleh Isolat Actinomyces L18 pada Media Ekstrak Jagung* telah diuji dan disahkan oleh Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember pada:

hari : SELASA  
tanggal : 06 NOV 2007  
tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas  
Jember

Tim Penguji

Ketua (Dosen Pembimbing Utama)

Sekretaris (Dosen Pembimbing Anggota)

**Drs. Sutoyo, M.Si.**  
NIP 131933435

Anggota I

**Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.**  
NIP 132083605

**Drs. Siswanto, M.Si.**  
NIP 132046350

Anggota II

**Drs. Rudju Winarsa, M.Kes.**  
NIP 132832331

Mengesahkan  
Dekan,



**Ir. Sumadi, M.S**  
NIP 130368784

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah robbil 'alamin, segala puji bagi Allah SWT Tuhan penguasa alam atas segala nikmat dan karunia yang telah diberikan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Produksi Antibiotik yang Menghambat Candida albicans oleh Isolat Actinomycetes L18 pada Media Ekstrak Jagung*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penyusun menyampaikan ucapan terima kasih pada pihak-pihak yang berperan dalam penyusunan skripsi ini yaitu:

1. Drs. Sutoyo, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Siswanto, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota atas segala petunjuk, bimbingan dan arahan yang diberikan;
2. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si., selaku Dosen Penguji I dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes., selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan masukan dalam penulisan skripsi ini;
3. Ir. Endang Susetyaningsih dan Sutrisno yang telah banyak membantu selama penelitian;
4. Reny Anne Puspitasari dan semua teman-teman *Biodiversity 2003* yang selalu menjadi sumber motivasi dan inspirasi;
5. Semua teman kontrakan berantas yang telah menjadi teman seperjuangan selama kuliah;
6. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini.

Penulis juga menyadari skripsi ini masih jauh dari sempurna, sehingga saran dan kritik demi perbaikan sangat diperlukan. Semoga skripsi ini bermanfaat untuk dijadikan acuan penelitian dan pengembangan lebih lanjut.

Jember, 5 Oktober 2007

Penulis



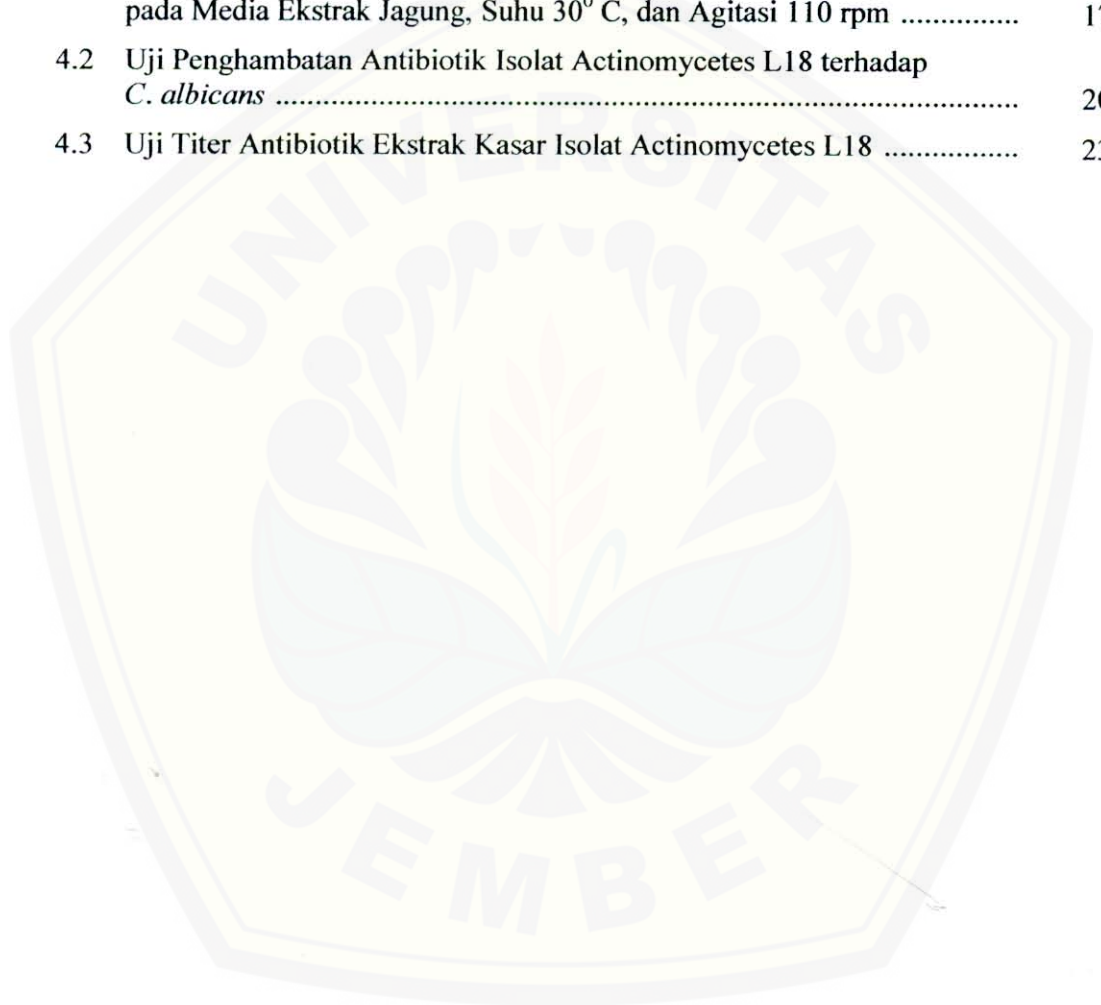
DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>RINGKASAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	ix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian</b> .....	3
1.3.1 Tujuan Penelitian .....	3
1.3.2 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Actinomycetes Sebagai Penghasil Antibiotik</b> .....	4
<b>2.2 Faktor Nutrien yang Diperlukan dalam Pertumbuhan dan     Produksi Antibiotik oleh Actinomycetes</b> .....	6
<b>2.3 Kandungan Senyawa Organik dan Anorganik dalam     Jagung</b> .....	7
<b>2.4 Hipotesis</b> .....	8
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	9
<b>1.1 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	9
<b>1.2 Rancangan Penelitian</b> .....	9
<b>1.3 Alat dan Bahan</b> .....	10
<b>1.4 Prosedur Penelitian</b> .....	10
3.4.1 Pembuatan Media Ekstrak Jagung .....	10

3.4.2	Peremajaan Isolat .....	11
3.4.3	Pertumbuhan dan Produksi Antibiotik Isolat Actinomyces L18 .....	11
<b>BAB 4.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>16</b>
4.1	<b>Pertumbuhan Isolat Actinomyces L18 pada Media Ekstrak Jagung .....</b>	<b>16</b>
4.2	<b>Produksi Antibiotik Ekstrak Kasar Isolat Actinomyces L18 pada Media Ekstrak Jagung .....</b>	<b>19</b>
4.3	<b>Titer Aktifitas Antibiotik Ekstrak Kasar Isolat Actinomyces L18 .....</b>	<b>22</b>
<b>BAB 5.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>24</b>
5.1	<b>KESIMPULAN .....</b>	<b>24</b>
5.2	<b>SARAN .....</b>	<b>24</b>
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>25</b>
	<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>31</b>

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Morfologi Mikroskopis Isolat Actinomycetes L18 Diamati dengan Mikroskop .....	5
4.1 Pertumbuhan dan Produksi Antibiotik oleh Isolat Actinomycetes L18 pada Media Ekstrak Jagung, Suhu 30 <sup>0</sup> C, dan Agitasi 110 rpm .....	17
4.2 Uji Penghambatan Antibiotik Isolat Actinomycetes L18 terhadap <i>C. albicans</i> .....	20
4.3 Uji Titer Antibiotik Ekstrak Kasar Isolat Actinomycetes L18 .....	23



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Komposisi Media.....	31
A.1 Media <i>Potato Dextrose Agar</i> (PDA) .....	31
A.2 Media <i>Potato Dextrose Broth</i> (PDB) .....	31
A.3 Media <i>Yeast Malt Extract Agar</i> (YMEA) .....	31
A.4 Media Ekstrak Jagung .....	31
B. Bola Misellia Isolat Actinomycetes L18 yang Diperoleh dari Hasil Kulturanya dalam Media Ekstrak Jagung.....	31
C. Hasil Uji Titer Antibiotik Ekstrak Kasar dari Kultur Isolat Actinomycetes L18 pada Media PDA Menggunakan <i>C. albicans</i> Sebagai Indikator .....	32
D. Hasil Uji Pengenceran Metanol pada Media PDA terhadap <i>C. albicans</i> Sebagai Indikator .....	32
E. Hasil Pengukuran Berat Kering Misellium Isolat Actinomycetes L18 pada Media Ekstrak Jagung .....	33
F. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Antibiotik Ekstrak Kasar Isolat Actinomycetes L18 pada Media Ekstrak Jagung terhadap <i>C. albicans</i> .....	33
G. Hasil Pengukuran Aktivitas Penghambatan Antibiotik Ekstrak Kasar Isolat Actinomycetes L18 terhadap <i>C. albicans</i> dengan Pengenceran Berseri untuk Penentuan Titer .....	34
H. Hasil Analisis Ekstrak Jagung terhadap pH, Kandungan C-Organik dan N-total .....	35



## BAB 1. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Isolat actinomycetes L18 yang diperoleh dari hasil penelitian eksplorasi actinomycetes asal lokal diketahui berpotensi sebagai penghasil antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan jamur patogen (Sutoyo, 2006). Menurut Augustine *et al.* (2005a) actinomycetes penghasil antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dapat dimanfaatkan dalam bidang farmakologi untuk produksi antibiotik. Aghighi *et al.* (2004) menyebutkan bahwa actinomycetes juga dapat dimanfaatkan dalam bidang pertanian sebagai inokulum untuk pengendalian hayati terhadap mikroba penyebab penyakit tanaman.

Pemanfaatan isolat actinomycetes hasil eksplorasi agar produksi antibiotik yang dihasilkan meningkat maka perlu dikaji kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya (Liang, 2003). Salah satu upaya yang perlu dilakukan adalah uji kesesuaian suatu jenis media produksi untuk produksi massal dan produksi antibiotik (Kobinata dan Osada, 1998). Menurut Waksman (1959) media yang sesuai untuk pertumbuhan dan produksi metabolit tertentu termasuk antibiotik oleh actinomycetes adalah media yang mengandung komponen nutrisi berupa karbon dan nitrogen. Sejumlah penelitian menyebutkan bahwa rasio karbon dan nitrogen (C:N) dalam media pertumbuhan mikroba berpengaruh terhadap produksi massal (Engelkes *et al.*, 1997) dan antibiotik (Habilitationsschrift *et al.*, 2002).

Jagung merupakan salah satu komoditas pertanian Indonesia. Produksi jagung pada tahun 2006 mencapai 12.136.798 ton ([www.bexi.co](http://www.bexi.co), Tanpa Tahun). Pemanfaatan jagung selain sebagai makanan pokok sebagian masyarakat Indonesia, adalah sebagai bahan baku industri untuk pembuatan makanan dalam kaleng, pakan ternak, minyak jagung, dan tepung jagung (Departemen Pertanian, Tanpa Tahun). Hasil samping pengolahan jagung yang dikenal dengan *corn steep liquor* telah

dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan mikroba dalam industri kertas (Akhtar *et al.*, 1997) dan farmakologi (Cardinal dan Hedrick, 1947).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Keller dan Heckman (2006) diketahui bahwa jagung mengandung senyawa karbon berupa gula tereduksi dan asam organik; senyawa nitrogen berupa protein kasar, asam amino, dan enzim; dan vitamin maupun nutrisi lainnya. Cardinal dan Hedrick; Moyer dan Heatley (dalam Islam dan Akhmad, 1956) menyatakan bahwa jagung telah dimanfaatkan sebagai media kultur untuk produksi antibiotik dalam skala industri karena kandungan nitrogen kompleks yang terdapat pada jagung. Hasil penelitian Kobinata dan Osada (1998) menyebutkan bahwa media yang mengandung jagung ternyata baik digunakan dalam produksi antibiotik yang dihasilkan oleh actinomycetes. Sehubungan dengan hal tersebut maka perlu diteliti bagaimanakah pertumbuhan dan produksi antibiotik yang dihasilkan oleh isolat actinomycetes L18 yang ditumbuhkan pada media ekstrak jagung.

## 1.2 Rumusan Masalah

Upaya pengembangan potensi antibiotik yang dihasilkan isolat actinomycetes L18 dapat dilakukan dengan menguji kesesuaian suatu jenis media untuk pertumbuhan dan produksi antibiotik. Media yang sesuai untuk pertumbuhan dan produksi antibiotik oleh actinomycetes adalah media yang mengandung senyawa karbon dan nitrogen. Jagung merupakan media yang mengandung nutrisi berupa senyawa karbon dan nitrogen. Untuk itu, maka penelitian ini dilakukan untuk menguji pertumbuhan dan produksi antibiotik oleh isolat actinomycetes L18 pada media ekstrak jagung. Produksi antibiotik pada penelitian ini diamati berdasarkan kemampuan penghambatan antibiotik ekstrak kasar terhadap jamur uji yang sensitif.

### 1.3 Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan dan produksi antibiotik ekstrak kasar yang menghambat pertumbuhan jamur oleh isolat actinomycetes L18 selama ditumbuhkan pada media ekstrak jagung.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut.

1. Memberikan informasi tentang produksi biomassa isolat actinomycetes L18 yang ditumbuhkan pada media ekstrak jagung untuk pembuatan inokulum.
2. Memberikan informasi produksi antibiotik ekstrak kasar penghambat pertumbuhan jamur oleh isolat actinomycetes L18 yang ditumbuhkan pada media ekstrak jagung dalam skala laboratorium.



## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Actinomycetes Sebagai Penghasil Antibiotik

Actinomycetes pada awalnya dipertimbangkan sebagai organisme peralihan antara jamur dan bakteri, namun pada saat ini telah disepakati sebagai bakteri karena struktur selnya menunjukkan ciri organisme prokaryotik (Agrawal *et al.*, 2006). Sebagai bagian dari kelompok bakteri, actinomycetes merupakan bakteri Gram positif dengan jumlah G+C lebih dari 50% (Srivibool dan Sukchotiratana, 2006). Karakteristik actinomycetes yang menyerupai jamur yaitu memiliki percabangan misellium udara dan pembentukan spora serta pertumbuhannya pada media kultur cair. Karakteristik tersebut terdapat pada beberapa genus actinomycetes antara lain *Streptomyces*, *Micromonospora* dan beberapa genus lain. Sedangkan karakteristik lainnya sama dengan bakteri yaitu diameter hifa dan spora, kandungan senyawa kimia dan biokimia (Waksman, 1959).

Isolat actinomycetes L18 merupakan isolat hasil isolasi dari tanah pertanian di Kecamatan Ledokombo Jember. Isolat tersebut memiliki karakter morfologi makroskopis berupa warna koloni ungu muda, pigmentasi hantal coklat, dan tidak menghasilkan eksudasi. Isolat actinomycetes L18 menghasilkan antibiotik pada media cair *Yeast Malt Extract* selama 6 hari. Antibiotik yang dihasilkan isolat actinomycetes L18 memiliki spektrum penghambatan yang luas, yaitu terhadap *Candida albicans*, *Fusarium sp.*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, dan *Rhizoctonia sp.* (Sutoyo, 2006). Pengamatan secara mikroskopik pada penelitian ini menunjukkan bahwa isolat tersebut menghasilkan spora yang berbentuk spiral. Bentuk spora isolat actinomycetes L18 seperti terlihat pada Gambar 2.1.

Suzuki *et al.* (2000) menyatakan bahwa actinomycetes merupakan mikroba yang memiliki potensi paling besar dalam menghasilkan antibiotik. Berbagai jenis



antibiotik telah banyak ditemukan, dipatenkan, dan dipasarkan setiap tahun yang dimulai sejak 50 tahun lalu (Liew *et al.*, 1998). Antibiotik merupakan salah satu senyawa yang mampu mengontrol pertumbuhan jamur patogen (Oh dan Lee, 2000). Oleh karena itu antibiotik digunakan secara luas dalam bidang pertanian, kedokteran hewan, kedokteran dan industri farmasi (Oskay *et al.*, 2004).



Gambar 2.1 Morfologi Mikroskopis Isolat Actinomycetes L18 Diamati dengan Mikroskop.

Menurut Tortora *et al.* (2004) secara umum aktifitas antibiotik penghambat pertumbuhan jamur terhadap sel target adalah merusak sterol jamur, merusak dinding sel, dan menghambat pembentukan dinding sel. Sterol merupakan jenis lipid yang terdapat dalam membran plasma. Dalam membran plasma jamur, sterol berperan seperti ergosterol; atau dalam membran sel hewan dikenal sebagai kolesterol. Antibiotik penghambat pertumbuhan jamur adalah senyawa yang mampu menghambat sintesis sterol, sehingga menyebabkan kerusakan permeabilitas membran plasma yang berakibat pada kematian sel (Igraham dan Igraham; Prescott dalam Augustine *et al.*, 2005a). Antibiotik juga mampu menghambat biosintesis  $\beta$ -glucan. Penghambatan biosintesis  $\beta$ -glucan menyebabkan dinding sel yang terbentuk tidak lengkap sehingga menyebabkan lisis sel. Penghambatan sintesis dinding sel juga dapat terjadi oleh pengubahan senyawa tertentu, misalnya *flocytocine*. *Flucytocine*

merupakan suatu analog pirimidin sitosin yang berperan dalam biosintesis RNA dan protein. Adanya toksisitas selektif yang disebabkan oleh antibiotik berpengaruh pada sel jamur karena berubahnya *flocytocine* menjadi *5-fluorouracil*, dimana senyawa tersebut mengganggu sintesis komponen dinding sel (Tortora *et al.*, 2004).

Jamur yang memiliki sensitivitas tinggi terhadap antibiotik biasanya digunakan sebagai mikrob uji untuk mengetahui potensi suatu antibiotik. *Candida albicans* merupakan khamir yang biasa digunakan sebagai organisme uji dalam pencarian antibiotik (Liew *et al.*, 1998). Gupte dan Kulkarni (2002) menggunakan *C. albicans* sebagai jamur uji untuk mengetahui potensi antibiotik yang dihasilkan oleh *Streptomyces chattanoogensis* MTCC 3423. *C. albicans* merupakan khamir lonjong yang bertunas (Alexoporus, 1960) yang menghasilkan *pseudohyphae* baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat (Jowest *et al.*, 1996). Koloni *C. albicans* yang ditumbuhkan pada media *dextrose agar* dengan suhu 25<sup>0</sup> C berwarna krem keputihan, lunak, dan berlendir. Pada inkubasi 72 jam dengan suhu 25<sup>0</sup> C ditemukan tunas *pseudohyphae* dan hifa sejati dengan *blastoconidia*. *Blactoconidia* tersebut terlihat seperti anggur yang tersusun memanjang pada lengan hifa. Terminal *chlamydoconidia* dapat terbentuk pada inkubasi yang lebih lama (Berkhout, 1923).

## 2.2 Faktor Nutrien yang Diperlukan dalam Pertumbuhan dan Produksi Antibiotik oleh Actinomycetes

Nutrisi merupakan salah satu faktor terpenting yang dibutuhkan dalam proses metabolisme untuk pertumbuhan dan produksi antibiotik oleh actinomycetes (Waksman, 1959). Nutrisi tersebut khususnya berupa senyawa karbon dan nitrogen (Gupte dan Kulkarni, 2002). Pada actinomycetes sumber nutrisi senyawa karbon yang sesuai untuk pertumbuhannya yaitu glukosa, maltosa, dekstrosa, pati, gliserol, dan asam amino. Sedangkan sumber nutrisi senyawa nitrogen berupa protein, pepton, dan asam amino (Waksman, 1959).

Metabolisme yang terjadi pada actinomycetes seperti pada mikrob lainnya dibedakan menjadi metabolisme primer dan metabolisme sekunder (Martin dan

Demain, 1980). Metabolisme primer berhubungan dengan reaksi yang dikatalis oleh enzim yang berfungsi untuk menghasilkan energi untuk kehidupan mikrob. Dalam metabolisme primer terjadi sintesis senyawa intermediet dan makromolekul seperti protein dan asam nukleat. Metabolit primer diproduksi dalam jumlah seimbang dan jarang diakumulasi. Sedangkan metabolisme sekunder bersifat spesies spesifik, berfungsi untuk pertahanan diri di alam, metabolit sekunder diproduksi secara berlebih dan biasanya diakumulasi (Turner, 1973). Metabolit sekunder biasanya dalam bentuk senyawa dengan berat molekul rendah (Bevan dalam Alves, 1997). Salah satu contoh metabolit sekunder yaitu antibiotik (Oskay *et al.*, 2004).

Fase pertumbuhan actinomycetes disebut "*trophophase*", sedangkan fase produksi antibiotik disebut "*idiophase*" (Bu'lock *et al.* dalam Martin dan Demain, 1980; Madigan *et al.*, 1997). Actinomycetes memproduksi antibiotik dalam *batch culture* setelah sebagian besar sel benar-benar tumbuh, sehingga produksi antibiotik bergantung pada fase pertumbuhan eksponensial (Sarkar dan Paulus, dalam Martin dan Demain, 1980). Pengaturan waktu produksi antibiotik tersebut juga berhubungan dengan sensitifitas actinomycetes selama pertumbuhan terhadap antibiotik yang dihasilkan. Oleh sebab itu actinomycetes memproduksi antibiotik hanya ketika faktor pertumbuhan mengalami penurunan (Bu'lock dalam Martin dan Demain, 1980). Akan tetapi pada beberapa actinomycetes berlangsungnya tropofase dan idiofase tidak dapat dibedakan dengan jelas. Hal ini disebabkan beberapa actinomycetes memproduksi antibiotik selama pertumbuhannya (Martin dan Demain, 1980).

### 2.3 Kandungan Senyawa Organik dan Anorganik dalam Jagung

Jagung mengandung protein sebanyak 4,1 gram, karbohidrat 30,2 gr, Lemak 1,3 gr, Kalsium 5,0 miligram, Fosfor 108 mg, Besi 1,1 mg, Vitamin A 117 SI, Vitamin B 0,18 mg, dan Vitamin C 9,0 mg tiap 100 gramnya (Iskandar, 2005). Asam amino yang terdapat dalam jagung didominasi oleh alanin yaitu 27,7 % atau seperempat persen dari total nitrogen sampel, sedangkan asam glutamat sebesar 7,93

% dari sampel terhidrolisat dan 3 % dari sampel tidak terhidrolisat (Cardinal dan Hedrick, 1947).

Jagung telah banyak dimanfaatkan sebagai substrat pertumbuhan dalam industri farmasi untuk produksi antibiotik antara lain penisillin (Keller dan Heckman, 2006). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Indrawansyah (2006) kandungan nutrisi yang terdapat dalam jagung mendukung pertumbuhan dan produksi antibiotik actinomycetes. *Streptothricin* dibentuk dalam jumlah besar ketika terjadi pencernaan protein atau asam amino seperti asam glutamat, glisin atau asparagin, digunakan sebagai sumber nitrogen (Waksman, 1943).

#### 2.4 Hipotesis

Isolat actinomycetes L18 mengalami pertumbuhan dan menghasilkan antibiotik dalam media ekstrak jagung.



### **BAB 3. METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu**

Penelitian ini bertempat di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni sampai dengan bulan Agustus 2007.

#### **3.2 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan dengan metode deskriptif. Topik yang dipelajari adalah produksi antibiotik oleh isolat actinomycetes L18 yang ditumbuhkan pada media ekstrak jagung. Untuk mengetahui hal tersebut diatas maka metode penelitian ini mencakup hal-hal sebagai berikut.

1. Produksi antibiotik dipelajari dengan cara menumbuhkan inokulum actinomycetes L18 pada media ekstrak jagung pada suhu  $30^{\circ}$  C selama 192 jam dan diagitasi dengan kecepatan 110 rpm.
2. Produksi antibiotik diamati dengan mengukur aktifitas penghambatan antibiotik yang diperoleh dari ekstraksi cairan media produksi dari setiap waktu inkubasi. Pada waktu yang sama dilakukan pengukuran pertumbuhan isolat penghasil antibiotik dengan mengamati penambahan biomasanya. Data produksi antibiotik dan biomassa isolat actinomycetes L18 pada masing-masing interval waktu inkubasi ditampilkan dalam suatu kurva yang menggambarkan hubungan antara produksi antibiotik setiap interval waktu inkubasi selama pertumbuhannya.
3. Antibiotik yang memiliki kemampuan penghambatan paling tinggi diukur secara kuantitatif titer aktifitas penghambatannya.

### 3.3 Alat dan Bahan

#### 3.3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat gelas, nongelas, dan yang lainnya. Peralatan gelas yang digunakan yaitu cawan petri, mikrometer, *haemocytometer*, tabung reaksi, tabung *sentrifuge*, labu Erlenmeyer, gelas ukur, *Beaker glass*, gelas pengaduk, pipet tetes, dan pipet volume. Peralatan nongelas yang digunakan yaitu rak tabung reaksi, jarum ose, pinset, pipet mikro, tip, tabung mikro, kertas saring Waksman no.1, alumunium foil, kertas tisu, *magnetic stirer*, dan jangka sorong. Peralatan lain yang digunakan terdiri atas lampu bunsen, neraca, inkubator, autoklaf, *hand counter*, vortex, *laminar air flow*, mikroskop, pH meter, *sentrifuge*, *shaker water bath*, oven, spektrofotometer GENESYS 20, dan kamera.

#### 3.3.2 Bahan

Isolat-isolat yang diuji dalam penelitian ini yaitu isolat actinomycetes L18 asal Ledokombo Jember dan isolat *C. albicans* yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Potato Dextrose Broth* (PDB), media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA), Jagung Varietas Pioneer-10, metanol absolut, larutan garam fisiologis 0,85 % steril dan alkohol.

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Pembuatan Media Ekstrak Jagung

Jagung diperoleh dari tanaman jagung yang berumur 68 hari. Jagung dibersihkan, dipisahkan dari tongkolnya kemudian ditimbang sebanyak 10 gram. Biji jagung kemudian dipanaskan dalam 1.000 ml akuades. Setelah mendidih selama 30 menit biji jagung disaring sehingga diperoleh larutan ekstrak jagung. Ke dalam larutan ekstrak jagung tersebut kemudian ditambahkan  $\text{CaCO}_3$ , NaCl dan akuades hingga volumenya mencapai 1.000 ml. Media ekstrak jagung tersebut selanjutnya

diatur pH-nya dengan menambahkan larutan NaOH 0,2 M atau HCL 0,2 M. Media ekstrak jagung selanjutnya disterilkan dengan cara diautoklaf.

#### 3.4.2 Peremajaan Isolat

Media yang digunakan untuk peremajaan isolat actinomycetes L18 yaitu media YMEA. Isolat actinomycetes diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose pada media YMEA miring dan diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup> C selama 14 hari. Sedangkan peremajaan isolat *C. albicans* menggunakan media PDA. Isolat diinokulasikan dengan menggunakan jarum ose pada media PDA miring dan diinkubasi pada suhu 30<sup>0</sup> C selama 24 jam.

#### 3.4.3 Pertumbuhan dan Produksi Antibiotik Isolat Actinomycetes L18

##### a. Pembuatan Inokulum Spora

Inokulum isolat actinomycetes L18 diperoleh dengan cara menambahkan 10 ml larutan Tween 80 0,1 % ke dalam biakan miring isolat actinomycetes L18 umur 7 hari. Selanjutnya spora dilepaskan dengan menggunakan ose dan divorteks sampai homogen. Suspensi tersebut difilter menggunakan alat filtrasi dan kertas saring Waksman no. 1 sehingga diperoleh filtrat yang berupa suspensi spora tunggal yang sudah terpisah dari hifanya. Spora kemudian dihitung menggunakan *haemocytometer* (Queener dan Capone, 1974). Penghitungan spora dilakukan dengan cara sebagai berikut. Suspensi spora dimasukkan diantara gelas penutup dan cekungan *haemocytometer*. Suspensi akan menyebar oleh gaya kapilaritas (Cano dan Colme, 1986). Spora kemudian dihitung menggunakan mikroskop. Spora dalam semua kotak besar dihitung, kemudian jumlah spora hasil perhitungan dari 25 kotak dirata-rata. Misalnya jumlah spora rata-rata hasil perhitungan diperoleh 14. Selanjutnya angka tersebut dikalikan dengan volume suspensi spora diatas kotak besar yaitu 1/1.250.000 per mililiter (panjang kotak kecil x lebar kotak kecil x dalam kotak kecil x 1/1.000

ml =  $\frac{1}{5} \times \frac{1}{5} \times \frac{1}{50} \times \frac{1}{1000}$ ). Dari perkalian tersebut jumlah spora tanpa pengenceran yang terhitung adalah sebanyak 17.500.000 sel/ml (Tortora *et al*, 2004).

Suspensi spora kemudian diatur kepadatannya sehingga menjadi  $1.67 \times 10^7$  spora/ml (OD = 0,1 pada panjang gelombang spektrofotometer 660 nm) (Gupte dan Kulkarni, 2002) sebanyak 50 ml dengan menggunakan rumus:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan:

$V_1$  = volume suspensi biakan stok yang diperlukan (50 ml)

$N_1$  = kepadatan spora yang akan di buat ( $1.67 \times 10^7$  spora/ml)

$V_2$  = volume suspensi spora yang diperlukan (ml)

$N_2$  = kepadatan spora yang ada (spora/ml)

#### b. Pembuatan Kultur Isolat Actinomycetes L18 pada Media Ekstrak Jagung

Volume media yang digunakan sebanyak 25 ml dalam Erlenmeyer 50 ml untuk masing-masing waktu inkubasi yang diuji dengan ulangan sebanyak dua kali. Waktu inkubasi yang diuji yaitu 0, 12, 24, 36, dan seterusnya sampai 192 jam dengan interval waktu 12 jam. Inokulum yang diinokulasikan ke dalam media yaitu sebanyak 5% suspensi spora dengan kepadatan  $1.67 \times 10^7$  sel/ml. Biakan ditumbuhkan dalam *shaker water bath* pada suhu  $30^0$  C dengan agitasi 110 rpm (Gupte dan Kulkarni, 2002).

#### c. Pengukuran Pertumbuhan dan Produksi Antibiotik Isolat Actinomycetes L18

Pertumbuhan dan produksi antibiotik isolat actinomycetes L18 diamati pada setiap biakan dengan masing-masing waktu inkubasi. Pengukuran pertumbuhan dilakukan dengan pengukuran pertambahan berat kering massa sel setiap interval waktu selama inkubasi, sedangkan produksi antibiotik diamati dengan cara menguji aktifitas penghambatan antibiotik yang diperoleh dari cairan kultur terhadap jamur uji *C. albicans*. Biakan masing-masing waktu inkubasi dipanen, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit (Voelker dan Altaba, 2001).



Supernatan yang diperoleh diambil kemudian digunakan dalam pengujian aktifitas penghambatan pertumbuhan jamur uji dengan diekstraksi terlebih dahulu, sedangkan pelet yang diperoleh digunakan untuk pengukuran biomassa dalam uji pertumbuhan (Papagianni dan Matthey, 2006).

### 1) Pengukuran Biomassa

Masing-masing pelet yang diperoleh dari hasil pertumbuhan isolat selama waktu inkubasi di cuci menggunakan akuades steril sebanyak dua kali. Selanjutnya pelet dalam tabung sentrifugasi dikeringkan pada suhu  $105^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam dan ditimbang sehingga diperoleh berat kering sel (Voelker dan Altaba, 2001).

### 2) Ekstraksi Antibiotik

Supernatan dari cairan biakan isolat actinomycetes L18 setiap waktu inkubasi dievaporasi dalam oven dengan suhu  $50^{\circ}\text{C}$  semalam. Ekstrak kasar yang diperoleh kemudian diencerkan menggunakan metanol absolut sebanyak 1 ml. Suspensi yang dihasilkan tersebut merupakan antibiotik ekstrak kasar. (Martins *et al*, 2004). Antibiotik yang diperoleh siap diuji aktifitas penghambatannya terhadap *C. albicans*.

### 3) Penghambatan Antibiotik

Pengujian aktifitas penghambatan antibiotik diawali dengan pembuatan inokulum *C. albicans*. Pembuatan inokulum *C. albicans* dilakukan dengan cara mensuspensikan satu ose *C. albicans* dari biakan miring ke dalam media PDB dan diinkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 4 jam. Media kultur *C. albicans* kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3.000 rpm selama 5 menit. Supernatan yang diperoleh dibuang, sedangkan pelet diresuspensikan dalam 4 ml larutan garam fisiologis 0,85% steril dan dihitung kepadatan selnya dalam spektrofotometer pada panjang gelombang 660 nm. Dari perhitungan tersebut kemudian dibuat 5 ml

suspensi sel dengan OD = 1 atau kepadatan  $1.5 \times 10^8$  (Gupte dan Kulkarni, 2002). Kepadatan sel tersebut diperoleh dengan rumus:

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

Keterangan:

$V_1$  = volume suspensi biakan stok yang diperlukan (5 ml)

$N_1$  = kepadatan sel yang akan di buat ( $1.5 \times 10^8$  sel/ml)

$V_2$  = volume suspensi sel yang diperlukan (ml)

$N_2$  = kepadatan sel yang ada (sel/ml)

Produksi antibiotik oleh isolat actinomycetes L18 ditentukan berdasarkan adanya aktifitas penghambatan antibiotik ekstrak kasar terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Aktifitas penghambatan antibiotik diuji menggunakan metode kertas cakram. Suspensi *C. albicans* sebanyak 200  $\mu$ l dibiakkan secara sebaran diatas 15 ml media PDA dalam cawan petri dengan merata. Kertas saring Wakasman no.1 yang sudah dicetak menjadi bentuk lingkaran dengan diameter 0,55 cm dan disterilkan diletakkan diatas media PDA yang sudah diinokulasi *C. albicans*. Antibiotik ekstrak kasar isolat actinomycetes L18 sebanyak 20  $\mu$ l dari setiap interval inkubasi di teteskan pada kertas cakram (De Beer dan Sherwood , 1945; Enefiok-J-Nknga dan Hagedorn, 1978). Cawan petri selanjutnya disimpan dalam suhu 4  $^{\circ}$ C selama 2 jam supaya antibiotik dapat berdifusi secara maksimum (El-naggar *et al*, 2006). Kemudian cawan petri diinkubasi semalam pada suhu 30 $^{\circ}$  C. Aktifitas penghambatan antibiotik terhadap *C. albicans* diamati dengan mengukur diameter zona penghambatan (Gupte dan Kulkarni, 2002). Antibiotik yang menunjukkan hambatan tertinggi diuji titer aktifitasnya.

#### 4) Uji Titer Aktifitas Penghambatan Antibiotik

Uji titer aktifitas penghambatan antibiotik dilakukan dengan pengenceran secara berseri (1:2, 1:4, 1:8 dst.) antara cairan antibiotik ekstrak kasar dengan larutan garam fisiologis 0,85% steril. Kemudian suspensi tersebut diuji aktifitas penghambatannya terhadap *C. albicans*. Aktifitas antibiotik dinyatakan dalam

*Arbitrary Unit* (AU). Satu AU/ml sama dengan perbandingan terbalik dari pengenceran tertinggi yang masih menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans* (Mary-Harting *et al*, 1972).



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Media ekstrak jagung dengan rasio karbon dan nitrogen sebesar 22:1 dapat mendukung pertumbuhan dan produksi antibiotik isolat actinomycetes L18. Isolat actinomycetes L18 yang diinkubasi selama 192 jam menunjukkan fase pertumbuhan eksponensial dengan berat kering tertinggi sebesar 0,352 gram. Produksi antibiotik isolat actinomycetes L18 terjadi selama pertumbuhannya, dan mencapai produksi tertinggi pada waktu inkubasi 168 jam dengan aktifitas fungisida terhadap *C. albicans*. Titer antibiotik ekstrak kasar isolat actinomycetes L18 sebesar 10.240 AU/ $\mu$ l.

### 5.2 Saran

Pertumbuhan isolat actinomycetes L18 pada media ekstrak jagung perlu diuji dengan waktu inkubasi yang lebih lama agar diperoleh pola pertumbuhan yang lengkap dan diketahui produksi massal tertinggi pada media tersebut. Pertumbuhan dan produksi antibiotik isolat actinomycetes L18 pada media ekstrak jagung perlu diuji penambahan jenis dan konsentrasi nitrogen yang paling sesuai. Selanjutnya perlu dilakukan karakterisasi antibiotik yang dihasilkan isolat actinomycetes L18 secara kualitatif, dan kuantitatif dan uji spektrum aktifitas penghambatannya terhadap mikrob patogen pada manusia, hewan, serta tumbuhan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Aghighi, Bonjar, Rawashdeh, Batayneh, and Saadoun. 2004. First Report of Antifungal Spectra of Activity of Iranian Actinomycetes Strains Against *Alternaria solani*, *Alternaria alternata*, *Fusarium solani*, *Phytophthora megasperma*, *Verticillium dahliae* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Asian Journal of Plant Sciences* Vol. 3, (4): 463-471, 2004 ISSN 1682-3974 [serial online]. <http://www.cababstractsplus.org/google/abstract.asp> [20 Agustus 2006].
- Agrawal, Singh, Khatri, Singh. 2006. *Biodiversity of Khumbu Region: Population Study of Actinomycetes* [serial online]. [http://www.Nepalschool.org/rlabb/biodiversity of khumbu region html](http://www.Nepalschool.org/rlabb/biodiversity%20of%20khumbu%20region.html). [20 Agustus 2006].
- Akhtar, M., Lentz, M. J., Blanchette, R. A. and Kirk, T.K. 1997. Corn steep liquor lowers the amount of inoculum for biopulping. *Tappi Journal* Vol. 80: no. 6 [serial online]. <http://www.fpl.fs.fed.us/documnts/pdf1997/akhta97c.pdf> [20 Agustus 2006].
- Alexoporus, C. J. 1960. *Introductory Mycology*. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Alves, A.M.C.R. Alves.1997. *Glucose metabolism in actinomycetes* [serial online]. <http://dissertations.ub.rug.nl/FILES/faculties/science/1997/a.m.d.c.r.alves/c1.pdf> [1 Maret 2007].
- Augustine, S. K., Bhavsar, S.P., and Kapadnis, B. P. 2005a. A Non-polyene Antifungal Antibiotic from *Streptomyces albidoflavus* PU 23. *J.Biosci.* Vol. 30 (2), March 2005, 201-211 [serial online]. <http://www.ias.ac.in/jbiosci/mar2005/201.pdf> [9 Mei 007].
- Augustine, S. K., Bhavsar, S.P., and Kapadnis, B. P. 2005b. Production of a growth dependent metabolite active against dermatophytes by *Streptomyces rochei* AK 39. *Indian J Med Res* 121, March 2005, pp 164-170 [serial online]. <http://medind.nic.in/iby/t05/i3/ibyt05i3p164.pdf> [1 Maret 2007].
- Berkhout, R. 1923. *Candida albicans* [serial online]. [http://www.doctorfungus.org/thefungi/Candida albicans.htm](http://www.doctorfungus.org/thefungi/Candida_albicans.htm). [1 Maret 2007].
- Cano, R. J. and Colme, J. S. 1986. *Microbiology*. St Paulo: West Publising Company.

- Cardinal, E. V., and Hedrick, L. R. 1947. Microbiological Assay Of Corn Steep Liquor For Amino Acid Content. *The Journal of Biological Chemistry*. [serial online] <http://www.jbc.org/cgi/reprint/172/2/609.pdf> [2 Mei 2007].
- Cox, P. W. Paul, G. C. and Thomas, C. R. 1998. Image analysis of the morphology of filamentous micro-organisms. *Microbiology* (1998), **144**, 817–827 [serial online]. <http://www.mic.sgmjournals.org/cgiireprint1444817> [2 Mei 2007].
- De Beer, E. J and Sherwood, M.B. 1945. The Paper-disc Agar-plate Method for the Assay of Antibiotic Substances [serial online]. <http://www.pubmedcentral.nih.govpicrender.fcgiartid=374159&blobtype=pdf> [19 Agustus 2007].
- Departemen Pertanian. Tanpa Tahun. Potensi dan Peluang Investasi [serial online]. [http://www.deptan.go.id/info\\_daerah/kalbar/41.htm](http://www.deptan.go.id/info_daerah/kalbar/41.htm) [2 Mei 2007].
- El-Naggar, M. Y., El-Assar. S. A., and Abdul-Gawad, S. M. 2006. Meroparamycin Production by Newly Isolated *Streptomyces* sp. Strain MAR01: Taxonomy, Fermentation, Purification and Structural Elucidation. In *The Journal of Microbiology*, **Vol. 44**, No. 4 August 2006, p.432-438 [serial online].
- Enefiok-J-Nknga and Hegedorn, C. 1978. Detection of Antibiotic-Producing *Streptomyces* Inhabiting Forest Soil. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, **Vol. 14**, No. 1 July 1978, p. 5-59 [serial online]. <http://www.aac.asm.org> [2 Mei 2007].
- Engelkes, C. A., Nuclio, R. L., and Fravel, D. R. 1997. Effect of Carbon, Nitrogen, and C:N Ratio on Growth, Sporulation, and Biocontrol Efficacy of *Talaromyces flavus*. *PHYTOPATHOLOGY* **Vol. 87**, No. 5, 1997 501[serial online]. <http://www.apsnet.org/phyto/PDFS/1997/0304-02R.PDF> [2 Mei 2007].
- Gadkari, D., Morsdorf, G., and Meyer, O. 1992. “Chemolithoautotrophic Assimilation of Dinitrogen by *Streptomyces thermoautotrophicus* UBT1: Identification of an Unusual N<sub>2</sub>-Fixing System”. *Journals of Bacteriology*. **Vol. 174**, No. 21. p.6840-6843. [serial online]. <http://www.pubmedcentral.nih.govpicrender.pdf> [28 Oktober 2007].
- Gupte, M.D. and Kulkarni, P.R. 2002. A Study Of Antifungal Antibiotic by *Streptomyces chattanoogensis* MTCC 3423 using Full Fraction Design. *Letters in Applied Microbiology* 2002, **Vol. 35**, 22-26. [serial online]. <http://www.blackwell-synergy.com/doi/pdf> [9 Mei 2007].

- Habilitationsschrift, Von, E., and Minas, W. 2002. *Regulation of Morphological and Physiological Differentiation in Actinomycetes*. Disertasi. Institute of Biotechnology, HPT. Switzerland [serial online]. [e-collection Zugriff über: http://e-collection.ethbib.ethz.ch](http://e-collection.ethbib.ethz.ch) [28 April 2007].
- Heu, S., Oh, J., Kang, Y., Ryu, S. Y., Cho, S. K., Cho, Y., and Cho, M. 2001. *gly Gene Cloning and Expression and Purification of Glycinecin A, a Bacteriocin Produced by Xanthomonas campestris pv. glycines 8ra*. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 67, No. 9 Sept. 2001, p. 4105–4110 [serial online]. <http://aem.asm.org/cgi/reprint/67/9/4105> [28 April 2007].
- Indrawansyah, S. 2006. *Produksi Eritromisina Secara Fermentasi Menggunakan Streptomyces erythreus atcc 11635 dengan Media Kentang, Tepung Jagung, Minyak Babi dan Tepung Kacang Kedele Domestik*. Skripsi Sarjana. Bandung : ITB [serial online]. <http://digilib.bi.itb.ac.id/go.php> [26 April 2007].
- Iskandar, D. 2005. *Pengaruh Dosis Pupuk N, P dan K Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Jagung Manis di Lahan Kering* [serial online]. <http://www.iptek.net.id/ind/?ch=jsti&id=15> [2 Mei 2007].
- Islam, M. F., and Akhmad. K. 1956. A Comparative Study of the Effect of Corn (*Zea mays*) Steep Liquor, Bengal Gram (Chik Pea or *Cicer areatinum*) Steep Liquor, and Rice (*Oriza sativa*) Steep Liquor on The Production of Pinicillium on the Surfase Cultur *abstrac* [serial online]. <http://links.jstor.org/sici?sici=0040-B2-B&size=LARGE&origin=JSTOR-enlargePage> [2 Mei 2007].
- Jowest, E., Menlick, J. L., and Adelberg, E. A. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Terjemahan Nugroho, E dan Maulana, R. F (eds). Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran.
- Keller and Heckman. 2006. *Assessment Plan for Corn Steep Liquor (CAS #66071-94-1) in Accordance with the USEPA High Production Volume Chemical Challenge Program* [serial online]. <http://www.epa.gov/chemrtk/pubs/summaries/cornstlq/c16469tp.pdf> [2 Mei 2007].
- Kim., B.S., Moon, S.S. and Hwang. 1999. Isolation, Antifungal Activity, and Structure Elucidation of the Glutarimide Antibiotic, Streptimidone, Produced *Micromonospora coerulea*. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* [serial online]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.html>. [2 Mei 2007].

- Kim, Yul-Min and Kim, Jae-heon. 2004. Formation and Dispersion of Mycelial Pellets of *Streptomyces coelicolor* A3(2) *The Journal of Microbiology, March 2004, p.64-67 Vol. 42, No. 1* [serial online]. <http://www.msk.or.krjspdwnloadPDF1.pdf> [12 September 2007].
- Kobinata, K and Osada, H. 1998. "Eksplotation and A Rapid Detection Method of Bioactive Compound from Microorganisms". Hlm. 247-254. Di dalam *Asian Network On Microbial Reseach Proceeding of International Conference on Asian Network On Microbial Reseaches*, 1998. Gajah Mada University (GMU) and The Institut of Physical and Chemical Reseach (Riken) and Science and Technology Agency, Jap an. Yogyakarta.
- Liang, L. 2003. *Investigation of Secondary Metabolites of North Sea Bacteria: Fermentation, Isolation, Structure Elucidation and Bioactivity*. Disertasi. Universität zu Göttingen [serial online]. <http://webdoc.gwdg.de/diss/2003/liang/liang.pdf> [Mei 2007].
- Liew, Nga, Tan, Ho, Nakase, and Suzuki. 1998. "Isolation of Actinomycetes from Soil and Screening for the Presence of Bioactive Substance Produced by Them", hlm. 155-164. Di dalam *Asian Network On Microbial Reseach Proceeding of International Conference on Asian Network On Microbial Reseaches*, 1998. Gajah Mada University (GMU) and The Institut of Physical and Chemical Reseach (Riken) and Science and Technology Agency, Jap an. Yogyakarta.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., and Parker, J. 1997. *Biologi Of Microorganism*. Eight Edition. New Jersey: Prentice Hall International, Inc.
- Marshall, K. C. and Alexander M. 1960. *Growth characteristics of fungi and actinomycetes* [serial online]. <http://www.jb.asm.org> [19 Agustus 2007].
- Martin, J. F., and Demain, A. L. 1980. Control Antibiotic Biosynthesis. *Microbiological Reviews, June 1980. p. 230-251 Vol. 44, No 2* [serial online]. <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=373178> [9 Mei 2007].
- Martins, R. A., Guimarães, L. M., Pamboukian, C. R., Tonso, A, Facciotti, M.C. R., Schmidell, W. 2004. The effect of dissolved oxygen concentration control on cell growth and antibiotic retamycin production in *Streptomyces olindensis* So20 fermentations In *Braz. J. Chem. Eng. V.21 n.2 São Paulo abr./jun. 2004* [serial online]. <http://www.scielo.br/scielo.phpo> [19 Agustus 2007].



- Mayer, G. 2007. *Antibiotics - Protein Synthesis, Nucleic Acid Synthesis and Metabolism* [serial online]. <http://www.ppathmicro.med.sc.edumayerantibiot.htm> [18 Agustus 2007].
- Mary-Harting, A., Hedges, A. J. and Berkeley, R. C. M. 1972. "Method for Studying bacteriocin. In Sudirman, Martiw, Benard, and Lefebore. *Properties of Two Bacteriocins Syntesized by Levkonostoc Strans*. *Curr. Microbial* **Vol. 28**, 155-159.
- Oh, H. S., and Lee, Y. H. 2000. A Target-Site-specific Screening System for Antifungal Compounds on Appressorium Formation in Magnoportha Grisea. *Phytopathology* **Vol. 90**: 1162-1168 [serial online]. <http://www.apsnet.org/phyto/pdfs/2000/0726-01R.pdf> [2 Mei 2007].
- Oskay, M., Tamer, A. Ü., and Azeri C. 2004. "Antibacterial Activity of Some Actinomycetes Isolates from Soil of Turkey". In *African Journal of Biotechnology* **Vol. 3** (9), pp. 441-446, September 2004 [serial online]. <http://www.academicjournals.org> [2 Mei 2007].
- Pamboukian, C. R. D. and Facciotti, M. C. R. 2005. "Rheological and Morphological Characterization of *streptomyces olindensis* Growing in Batch and Fed-batch Fermentations" *Brazilian Journal of Chemical Engineering* **Vol. 22**, No. 01, pp. 31 - 40, January - March, 2005 [serial online]. <http://www.abeq.org.br/bjche> [2 Mei 2007].
- Pappagianni, M. and Matthey, M. 2006. Morphological development of *Aspergillus niger* in submerge citric acid fermentation as a function of the spore inoculum level. Application of neural network and cluster analysis for characterization of mycelisl morphology [serial online]. <http://www.microbialcellfactories.com/content/5/1/3> [16 Maret 2007].
- Queener, S. W., and Capone, J. J. 1974. Simple Method for Preparation of Homogeneous Spore Suspensions Useful in Industrial Strain Selection. *APPLIED MICROBIOLOGY*, **Vol. 28**, No 3, Sept. 1974, p. 498-500 [serial online]. <http://aem.asm.org/cgi/reprint/28/3/498.pdf> [17 Maret 2006].
- Srivibool, R. and Sukchotiratana, M. 2006. Bioperspective of actinomycetes isolates from coastal soils: A new source of antimicrobial producers. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, **Vol. 28** (3) : 493-499 [serial online]. <http://www2.psu.ac.th/PresidentOffice/EduService/journal/28> [26 April 2007].

- Sutoyo, 2006. *Isolasi Aktinomycetes Asal Lokal Penghasil Senyawa Bioaktif Antijamur dan Karakterisasi Fisiologi Produksinya*. Tidak Dipublikasikan. Laporan Penelitian. Jember: Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.
- Suzuki, S., Okuda, T., and Komatsubara, S. 2000. Selective Isolation and Distribution of *Actinobispora* Strains in Soil. *Can. J. Microbiol.* **Vol. 46**: 708-715 [serial online]. <http://rparticle.webp.cisti.nrc.ca/rparticle/AbstractTemplateServlet?journal=cjm&volume=46&year=&issue=&msno=w00-047&calyLang=eng> [26 April 2007].
- Tortora, G. J., Funke, B. R., and Case, C. L. 2004. *Microbiology An Introduction*. Eight Edition. USA : Person Education.
- Turner, W. B. 1973. "Secondary Metabolism with Special Reference to Actinomycetes", hlm 209-217. In In Sykes, G., and Skinner, F. A. (eds). 1973. *Actinomycetales: Characteristics and Practical Importance*. London: Academic Press.
- Volker, f., and Altaba, S. 2001. Nitrogen sourcegoverns the patterns of growth and pristinamycin production in *Streptomyces pristinaespiralis*. *Microbiology* (2001), **147**, 2447-2459. [serial online]. <http://mic.sgmjournals.org/cgi/reprint/147/9/2447.pdf>. [24 Februari 2007].
- Waksman, S. A. 1943. *Production and activity of sterptothricin* [serial online]. <http://jb.asm.org/cgi/reprint/46/3/299.pdf>. [27 Februari 2007].
- Waksman, S. A. 1959. *The Actinomycetes: Nature, Occurance, and Activities: Vol. 1*. The Williams & Company. Baltimore.
- Williams, W. K. and Katz, E. 1976. Development of a Chemically Defined Medium for the Synthesis of Actinomycin D by *Streptomyces parvulus*. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, **Vol. 11**, No. 2, Feb 1977, p. 281-290. <http://www.aac.asm.org> [18 Agustus 2007].
- www.bexi.co. Tanpa Tahun. *Peluang Emas dari Butiran Jagung* [serial online]. [http://www.bexi.co.id/images\\_resOpini-Peluang%20Emas%20Dari%20Butiran%20Jagung.pdf](http://www.bexi.co.id/images_resOpini-Peluang%20Emas%20Dari%20Butiran%20Jagung.pdf) [19 September 2007].

## LAMPIRAN

## A. Komposisi Media

A.1 Media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

Komposisi	Jumlah
Kentang	2,0 gr
Dextrosa	2,0 gr
Agar	2,0 gr
Akuades	100 ml

A.2 Media *Potato Dextrose Broth* (PDB)

Komposisi	Jumlah
Kentang	2,0 gr
Dextrosa	2,0 gr
Akuades	100 ml

A.3 Media *Yeast Malt Extract Agar* (YMEA)

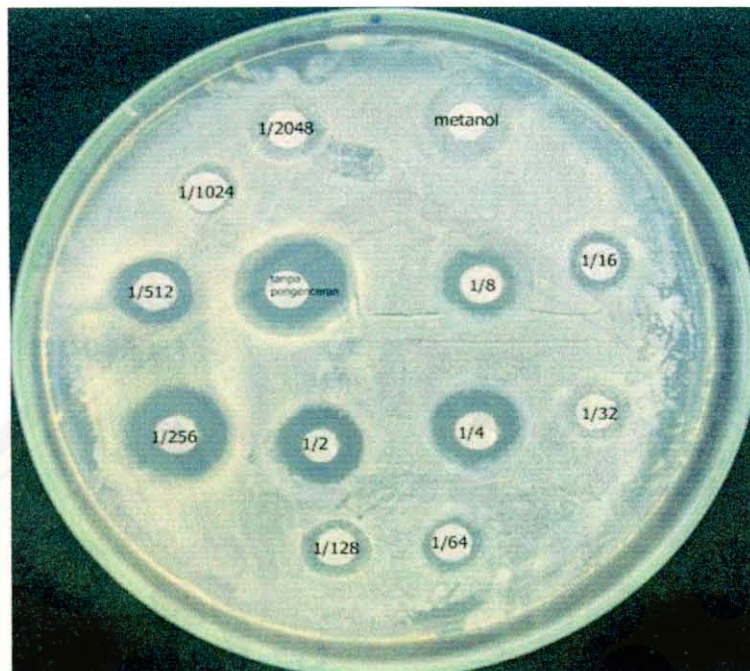
Komposisi	Jumlah
Malt extract	1,0 gr
Yeast extract	0,4 gr
Glukosa	0,4 gr
Agar	1,8 gr
Akuades	100 ml

## A.4 Media Ekstrak Jagung dengan pH 7,2-7,5 (dimodifikasi dari Gupte dan Kulkarni, 2002)

Komposisi	Jumlah
Jagung	1,0 gr
CaCO <sub>3</sub>	0,1 gr
NaCl	0,5 gr
Akuades	100 ml

B. Bola Misellia Isolat *Actinomyces* L18 yang Diperoleh dari Hasil Kulturnya dalam Media Ekstrak Jagung

C. Hasil Uji Titer Antibiotik Ekstrak Kasar dari Kultur Isolat Actinomyces L18 pada Media PDA Menggunakan *C. albicans* Sebagai Indikator



D. Hasil Uji Pengenceran Metanol pada Media PDA terhadap *C. albicans* Sebagai Indikator



E. Hasil Pengukuran Berat Kering Misellium Isolat Actinomycetes L18 yang Ditumbuhkan pada Media Ekstrak Jagung

Waktu Inkubasi (jam)	Berat Kering Massa Sel (gram/25 ml)
0	0,105
12	0,131
24	0,128
36	0,130
48	0,102
60	0,190
72	0,141
84	0,132
96	0,144
108	0,167
120	0,174
132	0,152
144	0,163
156	0,242
168	0,216
180	0,283
192	0,352

F. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan Antibiotik Ekstrak Kasar Isolat Actinomycetes L18 yang Ditumbuhkan pada Media Ekstrak Jagung terhadap *C. albicans*

Waktu Inkubasi (jam)	Diameter Zona Bening (mm)					Rata-rata
	I	II	III	IV	V	
0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
24	15,00	15,40	14,00	16,00	11,00	14,28
36	15,00	13,00	10,70	13,60	9,60	12,38
48	15,40	12,40	14,00	13,00	13,40	13,64
60	14,00	14,00	12,20	14,00	13,10	13,46
72	14,50	14,50	13,00	14,10	12,00	13,62
84	11,00	9,50	9,60	9,60	9,60	9,86
96	9,60	8,00	9,00	8,20	8,10	8,58
108	10,20	10,20	10,10	10,00	9,10	9,92
120	12,00	13,10	13,10	12,30	12,60	12,62
132	14,80	12,00	14,10	14,10	13,00	13,60
144	13,00	13,60	13,60	13,00	14,10	13,46
156	10,60	14,30	13,10	14,00	12,20	12,84
168	15,60	14,00	14,10	14,10	14,10	14,38
180	11,40	13,10	10,00	11,50	9,50	11,10
192	14,00	13,00	13,00	13,00	10,00	12,60



## H. Hasil Analisis Ekstrak Jagung terhadap pH, Kandungan C-Organik, dan N-total



**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL RI  
UNIVERSITAS JEMBER – FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN TANAH**

Program Studi Ilmu Tanah  
Jl. Kalimantan III/23 Jember 68121

Telp/Fax : (0331) 336142 Email : [jasa\\_analisis@yahoo.com](mailto:jasa_analisis@yahoo.com)

**HASIL ANALISA KIMIA**  
No : 668/J25.1.3/T/PM/2007

Asal dari : Fuad Bahrul Ulum  
Kode : 07/J/009  
Jenis : Ekstrak jagung  
Status contoh : Disampling pemohon  
Tanggal terima : 11 Juni 2007



No	Kode Contoh	Kode Lab	Hasil Analisa			Keterangan
			pH	N Tot (%)	C Org (%)	
1.	Ekstrak jagung	009	6,7	0,04	0,89	
2.	Ekstrak jagung	010	6,7	0,04	0,89	
3.	Ekstrak jagung	011	6,7	0,04	0,89	
4.	Ekstrak jagung	012	6,7	0,04	0,89	
5.	Ekstrak jagung	013	6,7	0,04	0,89	
6.	Ekstrak jagung	014	6,7	0,04	0,89	



**Dr. Ir. Josi Ali Arifandi, MS**  
NIP. 131 282 374