

PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP
PRODUKSI ANTIBIOTIKA - ANTIFUNGI
ACTINOMYCETES ISOLAT C DARI TANAH ASAL
KECAMATAN LARANTUKA
KABUPATEN FLORES TIMUR

DESI NATALIA MATASIK
N111 04 422



UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Parina	14 - 12 - 09
ni	farma
ni	1 elis
inventaris	Hudis
Klas	64

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI
ANTIBIOTIKA-ANTIFUNGI ACTINOMYCETES ISOLAT C DARI TANAH
ASAL KECAMATAN LARANTUKA
KABUPATEN FLORES TIMUR**

SKRIPSI

**Untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat untuk
mencapai gelar sarjana**

**DESI NATALIA MATASIK
N111 04 422**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2009**

PENGARUH WAKTU FERMENTASI TERHADAP PRODUKSI
ANTIBIOTIKA - ANTIFUNGI ACTINOMYCETES ISOLAT C DARI TANAH
ASAL KECAMATAN LARANTUKA
KABUPATEN FLORES TIMUR

DESI NATALIA MATASIK

N111 04 422

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama



Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt.
NIP. 19630801 199003 1 001

Pembimbing Pertama,



Dra. Sartini, M.Si., Apt.
NIP. 19611111 198703 2 001

Pembimbing Kedua,



Dra. Naimah Ramli, Apt.
NIP. 130 808 594

Pada tanggal Desember 2009

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan bimbingan-Nya sehingga penulis dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi ini dengan baik, yang mana merupakan tugas akhir dan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Walaupun selama ini penulis merasa tidak mampu untuk berada disini, namun satu hal yang menguatkan adalah bahwa ketika DIA menempatkan penulis disini ada sebuah rencana yang indah yang DIA rancangkan untuk penulis. Amin

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak sedikit kendala yang penulis hadapi, namun berkat bantuan dan dukungan berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut.

Untuk itu dengan segala kerendahan hati penulis menghaturkan terimakasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak Drs. Syaharuddin Kasim, M.Si., Apt, selaku pembimbing utama, Ibu. Dra. Sartini, M.Si., Apt selaku pembimbing pertama, dan Ibu Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt selaku pembimbing kedua yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing dan mengarahkan penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini, juga kepada Bapak Drs. H. Hasyim Bariun, M.Si., Apt. Selaku penasehat akademik selama penulis menjalani pendidikan di Fakultas Farmasi UNHAS.

Dengan penuh cinta penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada orang yang paling berjasa dalam hidup penulis. Kepada orang tua tercinta Ayahanda Drs Yohanis Matasik dan Ibunda Sarce mangiwa yang senantiasa setia mendoakan dan mendukung secara moril dan materiil. Mohon maaf jika penulis tidak mampu memberikan yang terbaik seperti yang kalian harapkan. Juga buat kakakku Roy Matasik, dan adikku Amelya Matasik, Meita Matasik dan Ade Lisa Matasik serta Edyanto Timbang Allo dan Fiet Hadi Lebang yang setia menemani dan memberikan semangat.

Pada kesempatan ini pula penulis menyampaikan ucapan terimakasih kepada:

1. Dekan Fakultas Farmasi Prof.Dr. Elly Wahyuddin, DEA., M.Si.,Apt
2. Bapak/Ibu Dosen Fakultas Farmasi UNHAS
3. Seluruh Staf dan Karyawan Fakultas Farmasi UNHAS
4. Terkhusus kepada sahabatku Cory Marnika, Eglia Aquino, Eka Setiawati, Sacha Anggraini yang jadi sahabat dalam suka dan duka. juga seluruh mahasiswa Farmasi Unhas khususnya teman-teman seperjuanganku 2004 Nur Asmi, Yunita Petricia, Dian Ekawati, Meyline, Yusri Grace, Rina, Novianty, Balqis dll. Kepada Ibu Adriana Pidun, kak Haslia S.Si, kak Dewi Primayanti, Ibu Sesila Bulu Odel, kak Donald, Latifa, dan Nurmaswati terima kasih untuk kerjasama dan dukungannya yang telah membantu dan memberikan masukan-masukan yang positif bagi penulis, serta

semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah memberikan semangat dan bantuannya.

Penulis sangat menyadari bahwa begitu banyak kesalahan dan kekurangan yang ada. penulis selalu berharap agar saran yang membangun selalu disampaikan kepada penulis demi terciptanya suatu karya yang lebih bermutu. Akhirnya semoga karya ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan.

Makassar, 2009

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji aktifitas antifungi hasil fermentasi *Actinomyces* isolat C asal Kecamatan Larantuka kabupaten Flores Timur. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu fermentasi optimum yang dapat menghasilkan efek antifungi terbesar. *Actinomyces* diinokulasikan dalam medium GYEA (Gliserol Yeast Extract Agar) kemudian difermentasikan selama 9 hari, lalu diambil filtrat dan residunya tiap hari untuk dilakukan pengujian aktivitas antifungi. Pengujian aktivitas antifungi dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi menggunakan kertas cakram dengan masa inkubasi 48 jam, selanjutnya diukur diameter zona hambatannya. Dari hasil penelitian diketahui bahwa hasil fermentasi *Actinomyces* isolate C memiliki aktifitas antifungi terhadap *Candida albicans* dengan waktu fermentasi yang paling baik untuk menghasilkan efek antifungi terbesar yaitu pada hari ke 6.

ABSTRACT

Assay of antifungal activity of the fermentation product of Actinomycetes - C isolated from district of Larantuka, East Flores. The aim of this research is to determine the period of maximum fermentation which producing the highest antifungal effect. Actinomycetes – C isolated was inoculated in GYEA (Glycerol Yeast Extract Agar) then was fermented for nine days. The filtrate and Supernatant were taken per day for Assay antifungal activity. Assay of antifungal activity was done by in vitro method with diffusion technique using paper disc in 48 hours incubation time, then the inhibition zone diameter was measured. By this research was concluded that fermentation product of Actinomycetes – C isolated had an antifungal activity to *Candida albicans* with the best fermentation time to get a biggest antifungal effect on the 6th day.

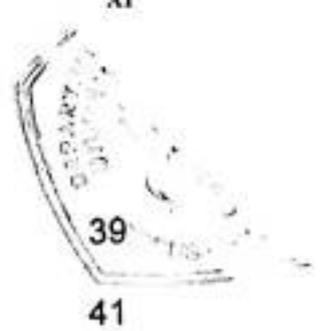
DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMA KASIH.....	iv
ABSTRAK.....	vii
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Uraian Umum Tanah.....	4
II.2 Uraian Umum Mikroorganisme Tanah.....	4
II.3 Uraian Umum Actinomycetes.....	5
II.4 Pertumbuhan Mikroba.....	7
II.5 Pengaruh Faktor Lingkungan.....	8
II.5.1 Pengaruh faktor fisik pada pertumbuhan.....	9
II.5.2 Pengaruh faktor kimia pada pertumbuhan.....	11
II.6 Fermentasi.....	13
II.7 Uraian Umum Antibiotika.....	15
II.7.1 Penggolongan Antibiotika.....	17
II.7.2 Mekanisme Kerja Antibiotik.....	20
II.8 Pengujian aktivitas antibiotika.....	23

II.8.1 Metode Pengenceran (Turbidimetri).....	23
II.8.2 Metode Difusi.....	23
II.8.3 Metode Enzimatik.....	25
II.9 Sistematika Mikroba Uji.....	26
BAB III PELAKSANAAN PENELITIAN.....	27
III.1 Alat dan Bahan.....	27
III.2 Sterilisasi Alat.....	27
III.3 Pembuatan Medium.....	28
III.4 Pengambilan dan Penyiapan Sampel.....	30
III.4.1 Pengambilan Sampel.....	30
III.4.2 Peremajaan Sampel Isolat C.....	30
III.4.3 Pembiakan Sampel Isolat C.....	30
III.4.4 Fermentasi isolat C	31
III.5 Penyiapan Mikroorganisme Uji.....	31
III.5.1 Peremajaan Khamir Uji.....	31
III.5.2 Pembuatan suspensi khamir uji	31
III.6 Pemeriksaan Aktifitas Antifungi.....	31
III.7 Pengolahan dan Analisis Data.....	32
III.8 Penarikan Kesimpulan.....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	38
V.1 Kesimpulan.....	38
V.2 Saran.....	38

DAFTAR PUSTAKA.....

LAMPIRAN.....



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Grafik Zona Hambatan Actinomycetes Isolat C terhadap pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	36
2. Daya Hambat dari Aktivitas Antifungi dari Hasil Fermentasi Hari ke 5 Actinomycetes Isolat C terhadap <i>Candida albicans</i>	46
3. Daya Hambat dari Aktivitas Antifungi dari Hasil Fermentasi Hari ke 6 Actinomycetes Isolat C terhadap <i>Candida albicans</i>	47
4. Daya Hambat dari Aktivitas Antifungi dari Fermentasi Hari Ke 7 Actinomycetes Isolat C terhadap <i>Candida albicans</i>	48

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Pengukuran Daya Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi Actinomycetes isolat C Terhadap Mikroba Uji <i>Candida albicans</i>	33

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	41
2. Hasil Perhitungan Filtrat Actinomycetes Isolat C Terhadap <i>Candida albicans</i>	42

BAB I

PENDAHULUAN



Penyakit infeksi masih menduduki urutan pertama pada pola penyakit di Indonesia dan antibiotika masih merupakan obat pilihan utama dalam menanggulangi penyakit infeksi, sehingga Kebutuhan antibiotika baru masih sangat diperlukan, terutama yang efektif melawan bakteri resisten, virus, protozoa dan fungi. Pada saat ini sebagian besar antibiotika baru yang diperkenalkan merupakan antibiotika semisintetik. Walaupun derivatisasi atau biokonversi menjanjikan antibiotika baru yang berguna, senyawa antibiotika baru yang alami masih terus dicari dan sangat diharapkan (1).

Keberhasilan mendapatkan antibiotika baru dari sumber alami seperti metabolit mikroba telah menimbulkan asumsi bahwa mikroba merupakan sumber senyawa baru yang tidak pernah habis. Bahkan selain aktivitas antibiotik, metabolit mikroba juga menjadi sumber senyawa aktif farmakologis atau fisiologis yang berguna dibidang medis (1).

Sumber mikroorganisme penghasil antibiotik antara lain berasal dari tanah, air laut, lumpur, kompos, limbah domestik, bahan makanan busuk dan lain-lain. Tanah merupakan tempat interaksi biologis yang paling dinamis dan mempunyai lima komponen utama yaitu mineral, air, udara, zat organik dan organisme hidup dalam tanah, diantaranya: bakteri, actinomycetes, fungi, algae, dan protozoa (2).

Actinomycetes merupakan mikroorganisme tanah yang mendapatkan proporsi paling besar karena kebanyakan antibiotik yang ada dihasilkan oleh actinomycetes. Bakteri Actinomycetes merupakan mikroorganisme peralihan antara bakteri dan jamur yang mengambil asam amino dan mengubahnya menjadi antibiotik untuk mengendalikan patogen, menekan jamur dan bakteri berbahaya dengan cara menghancurkan khitin yaitu zat esensial untuk pertumbuhannya (2,3).

Setiap organisme yang telah diperoleh, memerlukan pemurnian untuk mendapatkan strain yang paling berharga. Strain yang diperoleh dapat ditingkatkan lagi titer antibiotiknya, stabilitas biakan, pertumbuhan maupun sporulasinya(,4).

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Odel, SB. (2008), diperoleh hasil isolasi dan karakterisasi terhadap tanah yang berasal dari kecamatan Larantuka, Flores Timur sebanyak empat isolat tanah (isolat A, B, C, dan D) yang mengandung Actinomycetes. Isolat A dan B termasuk genus *Actinomyces* sedangkan isolat C dan D termasuk dalam genus *Streptomyces*. Dari keempat isolat tersebut, isolat C merupakan isolat yang paling baik penghambatannya terhadap mikroba uji. Berdasarkan hal tersebut dilakukan penelitian untuk mengetahui berapakah waktu fermentasi optimum yang dibutuhkan oleh actinomycetes isolat C untuk menghasilkan metabolit sekunder yang dapat digunakan sebagai senyawa antifungi?

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk menentukan waktu fermentasi optimum untuk produksi antifungi dari Actinomycetes isolat C asal Larantuka, kecamatan Lewolere Flores Timur dengan menggunakan *Candida albicans* sebagai khamir uji.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Umum Tanah (6,7,8)

Tanah sangat vital peranannya bagi semua kehidupan di bumi karena tanah mendukung kehidupan tumbuhan dengan menyediakan hara dan air sekaligus sebagai penopang akar. Tanah juga menjadi habitat hidup berbagai mikroorganisme. Tanah merupakan penutup terluar bumi yang terdiri dari lapisan-lapisan bahan yang tersusun longgar berupa bahan organik dan anorganik yang susunannya berbeda-beda tahapannya. Dalam definisi ilmiahnya tanah adalah kumpulan dari benda alam di permukaan bumi yang tersusun dalam horison, terdiri dari campuran bahan mineral, bahan organik, air, dan udara.

Tanah diklasifikasikan berdasarkan sifat fisika dan ukuran partikelnya dari yang berukuran makroskopik pada tanah berkerikil dan berpasir sampai yang berukuran mikroskopik pada tanah liat. Ada juga yang berukuran sangat halus yang lebih kecil dari 0,02 mm yang terdapat pada lumpur. Di dalam tanah terdapat air yang menyatu dengan tanah, melekat pada partikel tanah, atau berada di sela-sela partikel tanah.

II.2 Uraian Umum Mikroorganisme Tanah (9,10)

Tanah adalah ekosistem dinamis tempat mikroorganisme menjalin komponen fisika dan biologi. Secara umum tanah mengandung lima kelompok mikroorganisme yaitu bakteri, actinomycetes, fungi, alga, dan protozoa. Populasi mikroorganisme dalam tanah dipengaruhi oleh

beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme yaitu jumlah dan macam zat hara, kelembaban, tingkat aerasi, suhu, pH, dan perlakuan pada tanah seperti penambahan pupuk atau banjir yang dapat menyebabkan peningkatan jumlah mikroorganisme. Musim dan interaksi antara mikroorganisme juga mempengaruhi populasi mikroorganisme. Protozoa dan Actinomycetes yang dapat menghasilkan antibiotika dapat mematikan populasi mikroorganisme tertentu.

Pada umumnya mikroorganisme-mikroorganisme yang lebih banyak terdapat dipermukaan tanah. Makin ke dalam maka populasi semakin berkurang. Salah satu golongan mikroorganisme yang khas sebagai penghuni tanah dan memberi bau tanah adalah dari kelas Actinomycetes genus *streptomyces*.

II.3 Uraian umum Actinomycetes (2,7,11)

Actinomycetes merupakan mikroorganisme uniselular, menghasilkan miselium bercabang dan biasanya mengalami fragmentasi atau pembelahan untuk membentuk spora. Di alam actinomycetes dapat ditemui sebagai konidia atau bentuk vegetatif. Di daerah iklim panas populasinya lebih besar dari pada daerah dingin. Mikroorganisme ini tidak toleran pada pH rendah, kebanyakan actinomycetes, aktivitasnya sangat rendah pada pH 5,0 dan pada lingkungan pH tinggi actinomycetes mendominasi pertumbuhan mikroorganisme.

Actinomycetes adalah organisme tanah yang memiliki sifat-sifat yang umum dimiliki oleh bakteri dan jamur tetapi juga mempunyai ciri khas

yang cukup berbeda yang membatasinya menjadi satu kelompok yang jelas berbeda. Dalam hal taksonomi yang seksama, actinomycetes dikelompokkan dengan bakteri dalam kelas yang sama yaitu Schizomycetes tetapi terbatas hanya dalam ordo actinomycetales. Pada lempeng agar, mereka dapat dibedakan dengan mudah dari bakteri yang sebenarnya. Tidak seperti koloni bakteri sebenarnya yang jelas berlendir dan tumbuh dengan cepat, koloni actinomycetes muncul perlahan, menunjukkan konsistensi berbuk dan melekat erat pada permukaan agar.

Actinomycetes terdiri dari 10-50% total populasi mikroba dalam tanah. Kelimpahan populasi actinomycetes di dalam tanah adalah terbesar kedua setelah bakteri. Actinomycetes bersifat aerobik, karena itu membutuhkan oksigen untuk pertumbuhan. Oleh karena itu, tidak dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang basah. Actinomycetes tumbuh sangat lambat pada suhu 5°C dan dapat diisolasi lebih banyak dari tanah yang lebih panas daripada tanah yang dingin. Demikian pula sporanya yang dapat tumbuh pada semua keadaan, baik tanah yang lebih panas maupun tanah yang lebih kering, tetapi tidak berarti organisme tersebut menyukai panas. Pertumbuhan optimum pada suhu antara 28-37°C, tetapi beberapa actinomycetes tumbuh pada suhu 55-65°C, di dalam kompos.

Actinomycetes toleran terhadap keadaan basa. Dalam tanah yang bersifat alkali, 95% dari isolat mikroba terdiri dari Actinomycetes, berarti

juga organisme tersebut tidak tahan terhadap asam. Pada pH lebih kecil dari pada 5, Actinomycetes hanya merupakan bagian kurang dari 1% dari populasi mikroba.

II.4 Pertumbuhan Mikroba (12)

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan secara teratur semua komponen didalam sel hidup. Pada organisme multiseluler, pertumbuhan adalah peningkatan jumlah sel per organisme, dimana ukuran sel juga menjadi lebih besar. Pada organisme uniselular (bersel tunggal) yang disebut pertumbuhan adalah penambahan jumlah sel, yang berarti juga penambahan jumlah organisme, misalnya pertumbuhan yang terjadi pada suatu kultur mikroba. Pertumbuhan mikroba didalam suatu kultur dapat dilihat seperti pada fase pertumbuhan dibawah ini :

1. Fase adaptasi

Pada fase ini mikroorganisme melakukan penyesuaian diri dengan lingkungannya yang baru. Berbagai macam enzim dan zat-zat perantara yang dibentuk pada fase ini, sehingga memungkinkan akan terjadi pertumbuhan lebih lanjut. Sel-sel pada fase ini mulai membesar, tetapi belum melakukan pembelahan sel.

2. Fase pertumbuhan yang dipercepat

Pada fase ini mikroorganisme mulai melakukan pembelahan diri tetapi waktu generasinya masih panjang.

3. Fase pertumbuhan logaritma

Pada fase ini kecepatan pertumbuhannya paling cepat, waktu generasinya pendek dan konstan. Selama fase ini metabolisme paling cepat dan pesat, jadi sintesa bahan sel sangat cepat dan konstan.

4. Fase pertumbuhan mulai terhambat

Pada fase ini pertumbuhan mulai terhambat, hal ini disebabkan karena adanya pengurangan nutrient dan mulai terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme yang bersifat racun, juga terjadi perubahan lingkungan seperti pH dan lain-lain.

5. Fase stasioner atau fase konstan

Karena adanya penurunan kadar nutrient dan adanya penimbunan zat-zat yang bersifat racun, maka kecepatan pertumbuhan dan perbanyakannya mikroorganisme akan terhambat.

6. Fase kematian dipercepat dan fase kematian logaritma

Kedua fase ini sering disebut sebagai fase penurunan kematian. Pada fase ini kecepatan kematian meningkat sedangkan kecepatan pembelahan menjadi nol. Setelah sampai ke fase kematian logaritma kecepatan kematian mencapai maksimum.

II.5 Pengaruh faktor lingkungan pada pertumbuhan mikroorganisme (13)

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dapat dibedakan menjadi faktor fisik dan faktor kimia.

II.5.1 Pengaruh faktor fisik pada pertumbuhan

1. Temperatur

Temperatur menentukan aktivitas enzim yang terlibat dalam aktivitas kimia. Peningkatan temperatur sebesar 10°C dapat meningkatkan aktivitas enzim sebesar dua kali lipat. Pada temperatur yang sangat tinggi akan terjadi denaturasi protein yang tidak dapat balik (irreversible), sedangkan pada temperature yang sangat rendah aktivitas enzim akan berhenti. Pada temperatur pertumbuhan optimal akan terjadi kecepatan pertumbuhan optimal dan dihasilkan jumlah sel yang maksimal.

2. pH

Ph merupakan indikasi konsentrasi ion hydrogen. Peningkatan dan penurunan konsentrasi ion hydrogen dapat menyebabkan ionisasi gugus-gugus dalam protein, amino dan karboksilat. Hal ini dapat menyebabkan denaturasi protein yang mengganggu pertumbuhan sel.

3. Tekanan osmosis

Osmosis merupakan perpindahan air melewati membran semipermeabel karena ketidakseimbangan material terlarut dalam media. Dalam larutan hipotonik air akan masuk ke dalam sel mikroorganisme, sedangkan dalam larutan hipertonik air akan keluar dari dalam sel mikroorganisme sehingga membrane plasma mengkerut dan lepas dari dinding sel (plasmolisis) serta menyebabkan sel secara metabolic tidak aktif.

4. Oksigen

Berdasarkan kebutuhan oksigen, dikenal mikroorganisme yang bersifat aerob dan anaerob. Mikroorganisme aerob memerlukan oksigen untuk bernafas, sedangkan mikroorganisme anaerob tidak memerlukan oksigen untuk bernafas. Adanya oksigen pada mikroorganisme anaerob justru akan menghambat pertumbuhannya. Energy pada mikroorganisme anaerob dihasilkan dengan cara fermentasi.

5. Radiasi

Sumber utama radiasi di bumi dalai sinar matahari yang mencakup cahaya tampak (visible light), radiasi UV (ultraviolet), sinar inframerah, dan gelombang radio. Radiasi yang berbahaya untuk mikroorganisme dalai radiasi pengionisasi (ionizing radiation), yaitu radiasi dari panjang gelombang yang sangat pendek dan berenergi tinggi yang dapat menyebabkan atom kehilangan electron (ionisasi). Pada level rendah, radiasi pengionisasi ini dapat mengakibatkan mutasi yang mungkin mengarah pada kematian, sedangkan pada level tinggi pengaruh radiasi bersifat letal. Radiasi sinar ultraviolet menyebabkan terbentuknya dimer timin dalam DNA, di mana dua timin yang berdekatan saling berikatan secara kovalen sehingga menghambat replikasi DNA.

II.5.2 Pengaruh faktor kimia pada pertumbuhan

1. Nutrisi

Nutrisi merupakan substansi yang diperlukan untuk biosintesis dan pembentukan energy. Berdasarkan kebutuhannya, nutrisi dibedakan menjadi dua yaitu makroelemen, yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah banyak (gram) dan mikroelemen, yaitu elemen-elemen nutrisi yang diperlukan dalam jumlah sedikit (dalam takaran mg hingga ppm).

Makroelemen meliputi karbon (C), oksigen (O), hydrogen (H), nitrogen (N), sulfur (S), fosfor (P), kalium (K), magnesium (Mg), kalsium (Ca), besi (Fe). CHONSP diperlukan dalam jumlah besar (takaran gram) untuk pembentukan karbohidrat, lemak, protein, dan asam nukleat. P, K, Ca, dan Mg diperlukan dalam jumlah yang lebih kecil (mg) dan berperan sebagai kation dalam sel. Contohnya, K^+ diperlukan oleh sejumlah enzim untuk mensintesis protein, dan Ca^{2+} berperan dalam resistensi endospora bakteri terhadap panas.

Mikroelemen meliputi mangan (Mn), zinc (Zn), kobalt (Co), molybdenum (Mo), nikel (Ni), dan tembaga (Cu). Mikroelemen kadang merupakan bagian enzim atau kofaktor yang membantu katalisis dan membentuk protein. Contohnya, Zn^{2+} berada pada sisi aktif beberapa macam enzim dan terlibat dalam pengatauran dan katalisis enzim aspartat karbamolitransferase sedangkan kobalt diperlukan dalam biosintesis vitamin B_{12} .

Selain makroelemen dan mikroelemen, dikenal pula accessory nutrient, yang merupakan factor pertumbuhan (growth factor), yaitu bagian yang diperlukan oleh sel namun tidak dapat disintesis oleh sel tersebut. Accessory nutrient meliputi vitamin yang merupakan molekul organik kecil yang umumnya merupakan seluruh ataupun sebagian kofaktor enzim, dan hanya sejumlah kecil yang digunakan untuk pertumbuhan, asam amino yang diperlukan dalam sintesis protein, serta purin dan pirimidin yang diperlukan dalam sintesis asam nukleat.

2. Media kultur

Bahan dan nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium disebut media kultur. Pengetahuan tentang habitat normal mikroorganisme sangat membantu dalam pemilihan media yang cocok untuk pertumbuhan mikroorganisme di laboratorium. Berdasarkan konsistensinya, media dikelompokkan menjadi dua macam yaitu media cair (liquid media) dan media padat (solid media). Apabila media cair merupakan ekstrak kompleks material biologis, maka media tersebut dinamakan rich media atau broth. Media padat menggunakan bahan pembeku (solidifying agent), misalnya Agar, suatu kompleks polisakarida yang diperoleh dari alga merah (red algae). Agar memiliki komposisi kimia berupa D-galaktosa, 3,6-anhidro-L-galaktosa, D-glucuronic acid. Agar sebagai bahan pembeku akan mencair saat dididihkan, kemudian didinginkan pada suhu 40-42°C sebelum dibekukan. Medium Agar ini tidak akan

mencair lagi kecuali pada suhu 80-90°C. agar merupakan agen pengeras yang bagus sekali karena tidak dapat didegradasi oleh mikroorganisme.

II.6 Fermentasi (14,15,16)

Fermentasi merupakan aktivitas metabolisme microbial baik melalui proses aerobik ataupun anaerobik dimana terjadi perubahan kimia spesifik dari suatu substrat organik. Ditinjau dari pandangan industry mikrobiologi maka pengertian ini berkembang menjadi semua proses yang terjadi dikarenakan oleh mikroorganisme yang menghasilkan produk yang bernilai ekonomis. Banyak produk hasil fermentasi microbial yang memiliki nilai komersil yang telah dipelajari secara intensif, tetapi dari semuanya hanya beberapa yang diterapkan hingga sekarang.

Dalam proses fermentasi mikroorganisme, pemilihan medium yang tepat adalah hal yang sangat penting terhadap kesuksesan industri fermentasi. Disamping itu dibutuhkan substrat yang murah, mudah tersedia dan efisien penggunaannya. Dalam pertumbuhannya, mikroba membutuhkan zat-zat nutrisi untuk sintesa komponen sel dan menghasilkan energi. Sumber energy untuk menghasilkan ATP dibutuhkan karbohidrat dan protein. Selain itu mikroba juga membutuhkan beberapa factor pertumbuhan yaitu asam amino sebagai bagian dari protein, purin dan pirimidin sebagai bagian dari asam nukleat dan vitamin sebagai grup prostetik dari enzim. Mikroba bervariasi dalam kebutuhannya akan zat

nutrisi. Komposisi kimia sel mikroba umum menunjukkan kebutuhan mikroba akan unsur carbon, oksigen, nitrogen, hidrogen, fosfat dan sulfat menyusun 96% dari berat kering sel dan unsur-unsur mikro seperti kalium, calcium, magnesium, besi, mangan, tembaga, dan zink diperlukan oleh hampir semua mikroba (fisiologi fermentasi).

Ada beberapa metode yang dapat digunakan dalam proses fermentasi mikroorganisme antara lain:

1. Kultur permukaan (surface culture)

Pada metode ini, medium diinokulasikan spora atau miselium. Miselium akan tumbuh diseluruh permukaan medium cair membentuk suatu koloni bervariasi. Ini merupakan metode yang paling mudah dan murah, akan tetapi memiliki beberapa kerugian yaitu pertumbuhan yang tidak homogen dimana koloni terdiri dari beberapa miselium yang berbeda pertumbuhannya dan lingkungan tumbuhnya dimana miselium yang berada diatas permukaan koloni berada dalam kondisi yang lebih aerobik dibandingkan yang dibawah permukaan koloni. Hal ini berkebalikan pada keadaan kontak dengan medium.

2. Kultur dengan pengocokan (shaker culture)

Pada metode ini medium dikocok setelah diinokulasikan spora atau miselium sehingga pertumbuhan akan tampak pada seluruh medium. Kelebihan metode ini dibandingkan dengan metode kultur permukaan

yaitu pemanfaatan medium oleh mikroorganisme lebih efisien, mempercepat pertumbuhan dan pertumbuhannya lebih homogen.

3. Kultur dengan pengocokan, mengalirkan udara (stirred aerate culture)

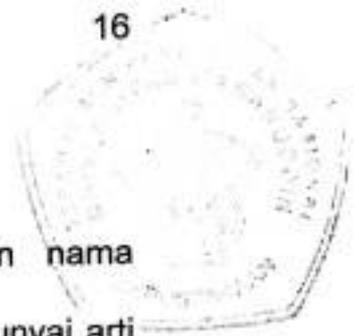
Metode ini merupakan pengembangan dari metode kultur dengan pengocokan, kemudian digunakan pengaduk medium dan jalur udara atau oksigen. Dikarenakan efisiensi pengocokan dan aerasi produksi dapat meningkat pesat dan ini merupakan metode yang paling efisien untuk memproduksi metabolit mikroba dalam skala besar.

4. Kultur berkelanjutan (continuous culture)

Metode ini dilakukan dengan cara berkala mengganti medium pada fermentor dengan medium fermentasi yang baru, hal ini akan menyebabkan proses fermentasi akan terus berlangsung. Metode ini akan sangat bermanfaat untuk penelitian laboratorium fermentasi, karena dengan menjaga ketersediaan medium baru kita dapat menjaga proses fermentasi pada tahapan yang diinginkan sementara efek yang lain dipelajari.

II.7 Uraian umum antibiotika (17,18,19)

Antibiotika adalah suatu senyawa kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil. Aktivitas antibiotika untuk pertama kalinya ditemukan secara kebetulan oleh Sir Alexander Fleming (Inggris, 1929, Penicillin) yang merupakan titik tolak penelitian yang menghasilkan senyawa dengan daya anti infeksi



yang sangat menakjubkan, yang sekarang dikenal dengan nama antibiotika. Akan tetapi penemuan Fleming tersebut tidak mempunyai arti dalam pengobatan praktis, sebelum Florey dan Chain serta kawan-kawannya di Oxford melakukan penelitian penerapan antibiotika tersebut dalam terapi. Namun jauh sebelumnya manusia telah menggunakan sejumlah bahan yang pada saat ini diduga efektif karena mengandung bahan yang bersifat antibiotika

Penemuan Vuilemin pada tahun 1889 telah menggunakan istilah antibiosis (melawan kehidupan) yang diartikan bahwa suatu organisme menghancurkan organisme lain dalam melindungi kepentingan hidupnya sendiri. Dari kata dasar inilah berkembang menjadi antibiotika yang luas digunakan baik oleh masyarakat awam, profesi kesehatan ataupun oleh ilmu pengetahuan lainnya, sehingga istilah tersebut hampir tidak mungkin untuk didefinisikan secara memuaskan. Demikian pula Waksman pada tahun 1943 mengatakan definisi yang lebih luas digunakan, bahwa antibiotika atau bahan antibiotika adalah bahan yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang mempunyai kemampuan menghambat atau mematikan mikroorganisme lain. Di samping itu Bennedict dan Langlyke mengatakan bahwa antibiotika adalah senyawa kimia yang diturunkan dari atau diproduksi oleh organisme hidup yang dalam kadar kecil mampu menginhibisi proses kehidupan mikroorganisme lain. Suatu senyawa yang digolongkan antibiotika, apabila:

1. Bahan tersebut merupakan produk metabolisme.

2. Bahan tersebut adalah produk sintesis yang dihasilkan sebagai analog struktur suatu antibiotika yang terdapat di alam.
3. Bahan tersebut mengantagonis pertumbuhan dan atau keselamatan satu spesies mikroorganisme atau lebih.
4. Bahan tersebut efektif dalam konsentrasi rendah.

II.7.1 Penggolongan Antibiotika

Antibiotika dapat dibedakan berdasarkan

1. cara kerja atau tipe kerjanya yaitu :
 - Bakterisid yaitu suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat berkhasiat mematikan. Bakteri-bakteri yang terkena efek dari zat bakterisid ini tidak bisa aktif lagi walaupun zat ini sudah dihilangkan dari lingkungan bakteri itu.
 - Bakteriostatik yaitu suatu senyawa yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan atau perbanyakan bakteri pada dosis biasa. Pertumbuhan atau perbanyakan dari bakteri itu akan berlangsung kembali jika efek zat atau senyawa tersebut sudah hilang.
 - Fungisida yaitu suatu senyawa yang dapat mematikan fungi
 - Fungistatik yaitu suatu senyawa yang pada dosis biasa dapat menghambat pertumbuhan dan perbanyakan fungi. Pertumbuhan dan perbanyakan ini akan berlangsung kembali jika efek dari senyawa fungistatik hilang.

2. Penggolongan antibiotika berdasarkan spektrum aktivitasnya, yaitu :
 - 1 Antibiotika dengan spektrum luas, efektif baik terhadap gram positif maupun gram negatif. Sebagai contoh adalah turunan tetrasiklin, turunan amfenikol, turunan aminoglikosida, turunan makrolida, rifampisin, beberapa turunan penisilin (ampisilin, amoksisilin, bakampisin, karbenisilin, hetasilin dan lain-lain dan sebagian turunan sefalosporin.
 - 2 Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram positif. Sebagai contoh adalah basitrasin, eritromisin, sebagian besar turunan penisilin seperti benzil penisilin, kloksasilin, penisilin G prokain dan beberapa turunan sefalosporin.
 - 3 Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan terhadap bakteri gram negatif, sebagai contoh adalah kolistin, polimiksin B sulfat dan sulfomisin.
 - 4 Antibiotika yang aktivitasnya lebih dominan pada Mycobacteriae, sebagai contoh adalah streptomisin, kanamisin, sikloserin, vimisin dan lain-lain.
 - 5 Antibiotika yang aktif terhadap jamur, sebagai contoh adalah griseofulvin, antibiotika polien (nistatin dan amfoterisin B).

Griseofulvin merupakan obat antifungi untuk infeksi dermatofit yang disebabkan oleh jamur Trichophyton, Epidermophyton, dan Microsporum. Terhadap sel muda yang sedang berkembang griseofulvin bersifat fungisidal. Obat ini tidak

efektif terhadap bakteri dan jamur lain dan ragi, *Actinomyces* dan *Nocardia*. Griseofulvin bekerja dengan menghambat mitosis jamur dengan mengikat protein mikrotubular dalam sel. Griseofulvin kurang baik penyerapannya pada saluran cerna bagian atas karena obat ini tidak larut dalam air. Obat ini mengalami metabolisme dihati dan metabolit utamanya adalah 6-metilgriseofulvin.

Nistatin merupakan suatu antibiotik polien yang dihasilkan oleh *Streptomyces noursei*. Nistatin menghambat pertumbuhan berbagai jamur dan ragi, tetapi tidak aktif terhadap bakteri, protozoa dan virus, jadi tidak menimbulkan masalah superinfeksi. Nistatin terutama digunakan untuk infeksi candida di kulit, selaput lendir dan saluran cerna. Obat ini tidak efektif untuk kandidiasis pada kuku dan kulit yang mengalami hiperkeratinisasi atau berkrusta. Larutannya mudah terurai dalam air ataupun plasma. Sekalipun nistatin mempunyai struktur kimia dan mekanisme kerja mirip dengan amfoterisin B, nistatin lebih toksik sehingga tidak digunakan sebagai obat sistemik. Nistatin tidak diserap melalui saluran cerna, kulit atau vagina.

Amfoterisin B merupakan hasil fermentasi *Streptomyces nodosus*. Amfoterisin B menyerang sel yang sedang tumbuh dan sel matang. Aktivitas antijamur nyata pada pH 6,0 – 7,5; berkurang pada pH yang lebih rendah. Antibiotik ini bersifat fungistatik atau

fungisidal tergantung dari dosis dan sensitivitas jamur yang dipengaruhi. Amfoterisin B berikatan kuat dengan sterol yang terdapat pada membran sel jamur. Ikatan ini akan menyebabkan membran sel bocor, sehingga terjadi kehilangan beberapa bahan intrasel dan mengakibatkan kerusakan yang tetap pada sel. Bakteri, virus dan riketsia tidak dipengaruhi oleh antibiotik ini karena jasad renik ini tidak mempunyai gugus sterol pada membran selnya. Pengikatan kolesterol pada membran sel hewan dan manusia oleh antibiotik ini diduga merupakan salah satu penyebab efek toksiknya. Resistensi terhadap amfoterisin B ini mungkin disebabkan oleh terjadinya perubahan reseptor sterol pada membrane sel.

- 6 Antibiotika yang aktif terhadap neoplasma (antikanker), Contohnya adalah aktinomisin, bleomisin, mitomisin, mitramisin dan lain-lain.

II.7.2 Mekanisme Kerja Antibiotika

Berdasarkan mekanisme kerjanya antibiotika dikelompokkan ke dalam:

1. Antibiotika yang mengganggu serta merusak metabolisme sel mikroba.

Mikroba membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya, karena bakteri pathogen harus mensintesis sendiri asam folat dari asam para amino benzoat (PABA). Apabila suatu zat antimikroba menang bersaing dengan asam para amino benzoate untuk diikuti

sertakan dalam pembentukan asam folat maka terbentuk analog asam folat yang non fungsional, akibatnya kehidupan mikroba akan terganggu. Contohnya Sulfonamida, Trimetoprin, Asam p-amino salisilat dan Sulfon.

2. Antibiotika yang menghambat sintesis dinding sel mikroba.

Dinding sel mikroba secara kimia adalah peptidoglikan yaitu suatu kompleks plimer mukopeptida (glikopeptida). Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat reaksi pembentukannya atau mengubahnya setelah dinding sel tersebut selesai dibentuk. Karena tekanan osmotik dalam sel mikroba lebih tinggi daripada luar sel, maka kerusakan dinding sel mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis. Hal ini berdasarkan efek bakterisid pada mikroba yang sensitif. Contohnya Penisilin, Sefalosforin, Basitrasin, Vankomisin dan Sikloserin.

3. Antibiotika yang mengganggu keutuhan membran sel mikroba.

Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu didalam sel dan mengatur aliran keluar masuknya bahan-bahan lain. membran sel memelihara integritas komponen-komponen seluler. Kerusakan pada membrane ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel, akibatnya mikroba mati. Contohnya Polimiksin dan golongan Polien.

4. Antibiotika yang menghambat sintesis protein sel mikroba.

Sintesis protein berlangsung diribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Pada bakteri ribosom terbagi atas 2 sub unit berdasarkan

konstanta sedimentasi yaitu ribosom 30S dan 50S. penghambatan antimikroba dapat terjadi dengan cara; pertama, zat antimikroba berikatan dengan 30S dan menyebabkan kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA pada waktu sintesis, akibatnya akan terbentuk protein yang abnormal dan nonfungsional bagi sel mikroba. Contohnya Streptomisin dan Kloramfenikol.

Cara yang kedua, zat antimikroba berikatan dengan ribosom 50S dan menghambat translokasi kompleks tRNA peptida dari lokasi asam amino ke lokasi peptida. Akibatnya rantai polipeptida tidak dapat diperpanjang karena lokasi asam amino tidak dapat menerima kompleks tRNA-asam amino yang baru. Contohnya Streptomisin dan Kloramfenikol.

5. Antibiotika yang menghambat sintesis asam nukleat sel mikroba.

DNA dan RNA memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Zat antimikroba bekerja dengan cara berikatan dengan enzim polymerase-RNA (pada sub unit) sehingga menghambat sintesis RNA dan DNA oleh enzim tersebut. Contohnya Rifampisin dan golongan Kuinolon.

II.8 Pengujian Aktivitas antibiotika (9)

II.8.1 Metode Pengenceran (Turbidimetri)

Metode ini menggunakan teknik tabung pengenceran penghambatan pertumbuhan (berkurangnya pertumbuhan) yang di hasilkan oleh sampel yang di uji terhadap pertumbuhan mikroorganisme dapat di ukur dengan alat Fotokolorimeter. Prinsip kerjanya yaitu cahaya yang mengenai sel-sel mikroorganisme di dalam sampel akan dihamburkan sedangkan cahaya yang diteruskan setelah melewati suspensi mikroorganisme akan mengaktivasi foto tabung yang akan mencatat persen transmittan (%T). Makin sedikit jenis sel di dalam suspensi maka makin besar intensitas cahaya yang lolos dan semakin tinggi pula persen transmittan yang tercatat.

II.8.2 Metode Difusi

Metode difusi adalah proses perembesan larutan contoh media. Pada media ini kemampuan zat antibiotika ditentukan berdasarkan daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme uji pada media tersebut. Beberapa modifikasi dari cara ini adalah :

1. Metode Difusi dengan Plat Silinder

Cara ini berdasarkan perbandingan antara daerah hambatan yang dibentuk oleh larutan contoh terhadap pertumbuhan mikroorganisme dengan daerah hambatan yang terjadi oleh larutan pembanding. Pada

cara ini digunakan plate silinder yang diletakkan pada media kemudian larutan contoh dimasukkan ke dalam plate silinder tersebut.

2. Metode Difusi dengan Cup Plate

Prinsip cara ini sama dengan plat silinder perbedaannya disini digunakan mangkok yang dibuat langsung pada media agarnya.

3. Metode Difusi dengan Kertas Saring.

Perbedaan metode ini dengan cara-cara di atas yaitu pada metode ini digunakan kertas saring yang dibuat dengan bentuk dan ukuran tertentu biasanya berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,0 cm yang nanti akan dicelupkan dalam larutan contoh dan larutan pembanding. Pengamatan dilakukan setelah masa inkubasi dengan mengukur daerah hambatan yang terjadi.

4. Metode Difusi Kirby Bauer

Pinsip dan cara kerjanya sama dengan metode difusi kertas saring. Perbedaannya adalah di sini menggunakan alat untuk meletakkan kertas saring ke dalam cawan petri yang berukuran 15x150 mm sehingga langsung di uji dengan berbagai variasi konsentrasi dalam larutan contoh.

5. Metode Agar Berlapis

Cara ini merupakan dari cara Kirby Bauer. Perbedaannya adalah pada cara ini menggunakan dua lapis agar, lapisan pertama "Base Layer" tidak mengandung bakteri, sedangkan lapisan kedua "Up Layer" mengandung bakteri yang dicampurkan pada media agar.

II.8.3 Metode Enzimatik

Metode pengujian ini sangat spesifik, dan secara kuantitatif dalam waktu singkat dapat menentukan jumlah produk hasil fermentasi, juga dapat membedakan antara komponen yang aktif secara biologi dengan yang tidak aktif. Caranya adalah dengan menambahkan sejumlah enzim tertentu kedalam medium kultur cair yang telah diinokulasikan mikroba uji serta ditambahkan komponen yang akan diujikan sehingga akan menyebabkan terjadinya beberapa perubahan pada produk hasil fermentasi yang dapat diukur.

II.9 Sistematika Mikroba Uji (20,21)

II.9.1 *Candida albicans*

Divisi	: Eumycophyta
Kelas	: Ascomycetes
Bangsa	: Saccharomycetales
Famili	: Cryptococcaceae
Genus	: Candida
Species	: <i>Candida albicans</i>

Spesies candida dianggap Yeast karena tumbuh pada budaya tipikal pada ukuran 4-6 μm , berbentuk lingkaran atau oval dibawah kondisi dan suhu terbaik. Perhatian besar lebih banyak ditujukan kepada *Candida albicans* karena sering menyebabkan penyakit dibandingkan dengan spesies lainnya. Penyakit yang disebabkan oleh candida adalah Kandidiasis. Kandidiasis ini yang paling sering dijumpai pada infeksi akut dan kronik dari kulit, kuku dan membran mukosa.

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan bahan yang digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, botol pengencer, cawan petri (Pyrex), inkubator (Memmert), jangka sorong (Sunlon), *Laminar Air Flow (Enviro)*, lemari pendingin (Panasonic), Lampu spritus, mikroskop (Passed), oven (WTB Binder), ose, *Paper disc (oxoid)*, sentrifuge (DSD 154), Spektrofotometri UV-Vis (Model 340), Shaker (MSP VX2), timbangan analitik (Chyo JL 200).

Bahan-bahan yang digunakan dalam Actinomycetes isolat C, Alkohol 70%, Aluminium foil, biakan murni *Candida albicans*, larutan NaCl fisiologis, Medium Glicerol yeast Ekstrak Agar (Difco), Medium produksi (Difco), Medium Maltose Yeast Ekstrak Broth (Difco), Medium Potato Dextrosa Agar (Pronadisa).

III.2 Sterilisasi Alat

Alat-alat yang digunakan dicuci dengan air dan detergen kemudian dibilas dengan air suling, selanjutnya dikeringkan, dibungkus dan disterilkan. Untuk alat-alat yang terbuat dari gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 170°C selama 2 jam. Alat-alat logam disterilkan dengan cara dipijarkan menggunakan lampu spritus, sedangkan untuk alat-alat yang tidak tahan pada pemanasan tinggi

disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C , tekanan 2 atm selama 15 menit.

III.3 Pembuatan Medium (23)

a. Medium GYEA (Glycerol Yeast Extract Agar) dengan komposisi :

Gliserol	5,0 gram
Ekstark Yeast	2,0 gram
Agar	15,0 gram
K_2HPO_4	0,1 gram
Pepton	25,0 gram
Air suling	ad 1000 ml
pH	7,0

Cara mebuat :

Bahan-bahan ditimbang sesuai dengan kebutuhan kemudian masing-masing bahan-bahan tersebut disuspensikan dengan air lalu dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan homogen, diukur pH nya. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling sampai volume 1000 ml. disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

b. Potato Dextrose Agar (PDA) dengan komposisi :

Potato	10,0 gram
Glukosa	40,0 gram
Agar	15,0 gram
pH	5,6

Cara membuat :

Bahan-bahan ditimbang sesuai kebutuhan kemudian masing-masing bahan tersebut disuspensikan dengan air lalu dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan homogen, diukur pH nya. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling sampai volume 1000 ml. disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

c. Maltose Yeast Extract Broth dengan komposisi :

Maltosa	10,0 gram
Extract yeast	4,0 gram
Air suling	ad 1000 ml

Cara membuat :

Bahan-bahan ditimbang sesuai kebutuhan kemudian masing-masing bahan tersebut disuspensikan dengan air lalu dipanaskan sampai mendidih hingga semua bahan homogen, diukur pH nya. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling sampai volume 1000 ml. disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

d. Medium Produksi dengan komposisi :

Glukosa	20,0 gram
Pati terlarut	10,0 gram
Tepung kedelai	25,0 gram
Extract yeast	10,0 gram

NaCl	2,0 gram
Air Suling	ad 1000 ml
pH	7,0

Cara membuat :

Bahan-bahan ditimbang sesuai kebutuhan kemudian masing-masing bahan tersebut disuspensikan dengan air lalu diaduk hingga semua bahan homogen, diukur pH nya. Air yang hilang selama pemanasan diganti dengan menambahkan air suling sampai volume 1000 ml. disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit pada tekanan 2 atm.

III.4 Pengambilan dan penyiapan sampel

III.4.1 Pengambilan sampel

Sampel diambil dari koleksi laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin, yang merupakan hasil isolasi dan karakterisasi dari Odel SB.

III.4.2 Peremajaan sampel isolat C

Sampel isolat C diinokulasikan 1 ose dalam medium Glycerol yeast extract agar kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C kemudian ditambahkan larutan NaCl fisiologis sebanyak 10 ml.

III.4.3 Pemiakan Sampel isolat C

Suspensi sampel yang telah diremajakan, diinokulasikan dalam 100 ml medium pembenihan cair MY-Broth lalu diinkubasi pada suhu kamar

selama 1x24 jam dan dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 170 rpm.

III.4.4 Fermentasi Isolat C

Dimasukkan 75 ml Inokulum kedalam erlenmeyer yang berisi 750 ml medium produksi, lalu difermentasikan selama 7x24 jam pada suhu kamar, kemudian diambil tiap hari masing-masing 40 ml dan dimasukkan kedalam 4 tabung sentrifuge untuk dipisahkan filtrat dan residunya.

III.5 Penyiapan Mikroorganisme uji

III.5.1 Peremajaan khamir uji (24)

Khamir uji yaitu *Candida albicans* yang berasal dari biakan murni diambil 1 ose lalu diinokulasikan dengan cara digoreskan pada medium PDA miring lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 3x24 jam.

III.5.2 Pembuatan Suspensi khamir uji (24)

Khamir uji yang telah diremajakan disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis steril lalu diukur transmitannya pada 75% T menggunakan Spektrofotometer, sebagai blanko digunakan larutan NaCl fisiologis.

III.6 Pemeriksaan aktivitas antifungi

Medium Potato Dextrosa Agar (PDA) didinginkan hingga suhu 25°C, kemudian 15 ml medium PDA dicampur dengan 2 ml suspensi mikroba uji dan dituang secara aseptik kedalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga setengah memadat. Kemudian masing-masing *paper disc* yang sudah ditetesi dengan filtrat dan residu hasil fermentasi diletakkan

secara aseptik, sebanyak 0,2 ml dalam cawan petri tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 2x24 jam. Daerah hambatan berupa zona bening disekitar paper disc, diukur dan dicatat.

III.7 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang diperoleh dikumpulkan dari masing-masing hasil pengujian aktivitas antifungi filtrat dan residu.

III.8 Penarikan Kesimpulan

Kesimpulan diambil berdasarkan hasil pembahasan dan perhitungan statistik.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Setelah dilakukan fermentasi selama 9 hari terhadap Actinomycetes isolat C diperoleh data seperti pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Pengukuran Daya Hambat Filtrat dan Residu Hasil Fermentasi Actinomycetes isolat C Terhadap Mikroba Uji *Candida albicans*

Replikasi		Lama Fermentasi (hari)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
F I L T R A T	I	0	0	11,35	14,80	16,10	17,25	15,20	13,40	7,55
	II	0	0	12,25	14,60	17,00	19,15	17,10	14,15	8,70
	III	0	0	9,15	12,10	15,10	17,10	14,60	13,60	8,20
	Σ	0	0	38,05	41,50	48,20	53,50	46,90	41,15	24,45
	x	0	0	12,68	13,83	16,07	17,83	15,63	13,72	8,15
R E S I D U	I	0	0	7,10	9,30	12,20	12,40	11,15	9,75	8,35
	II	0	0	7,50	10,15	13,10	11,70	10,65	9,60	7,75
	III	0	0	7,00	9,50	12,65	12,00	10,30	9,00	7,20
	Σ	0	0	21,60	28,95	37,95	36,10	32,10	28,35	23,30
	x	0	0	7,20	9,65	12,65	12,03	10,70	9,45	7,77

IV.2 Pembahasan

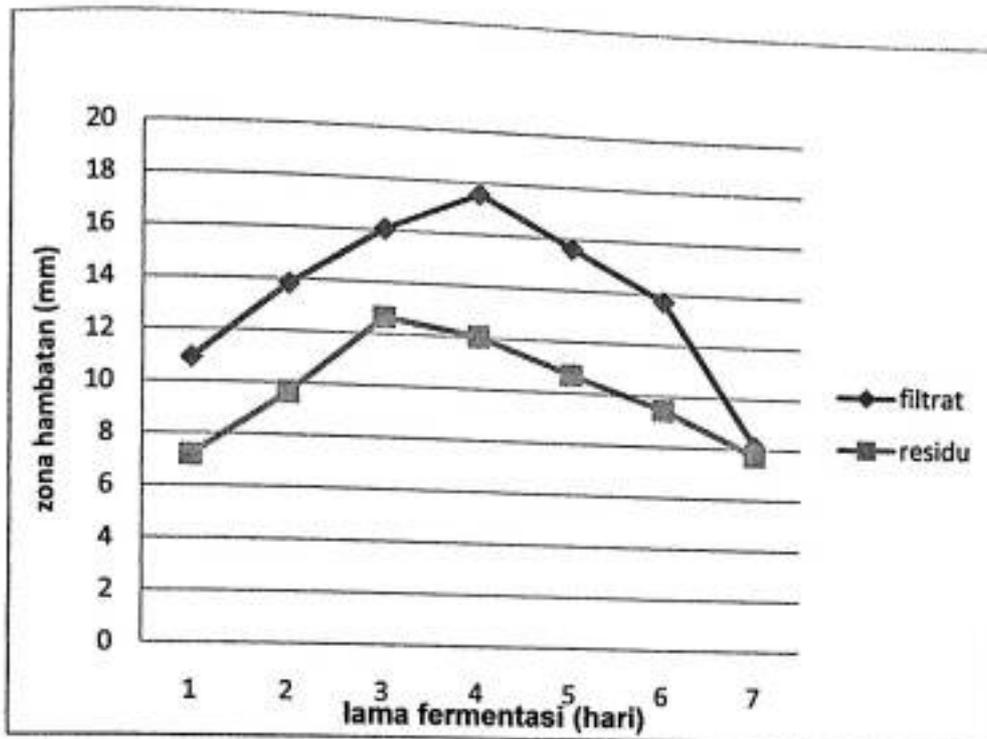
Fermentasi Actinomycetes isolat C yang berasal dari tanah asal kecamatan Larantuka kabupaten Flores Timur dilakukan dengan menumbuhkannya pada medium Glicerol Yeast Extract Agar. Medium ini merupakan sumber nitrogen, asam-asam amino peptida, vitamin dan juga karbohidrat, kemudian diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Actinomycetes isolat C yang telah ditumbuhkan kemudian dipindahkan

kedalam medium MY-Broth (Maltosa Yeast Broth) hal ini dilakukan agar Actinomycetes isolat C tetap terpenuhi kebutuhan nutrisinya sehingga dapat berkembangbiak dengan baik kemudian dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 1x24 jam pada suhu kamar. Penggunaan shaker bertujuan agar perkembangbiakan isolat C dan nutrisi yang terdapat didalam Erlenmeyer terbagi secara merata. Setelah dishaker selama 1x24 jam isolat C tersebut difermentasikan selama 9 hari. Pada penelitian ini dilakukan fermentasi selama 9 hari dengan variasi pengambilan Actinomycetes isolat C setiap 1x24 jam. Hal ini dimaksudkan, agar dapat diketahui waktu yang paling baik untuk memproduksi Actinomycetes isolat C yaitu saat terjadi pembentukan zat aktif antifungi yang maksimal. Kebanyakan dari produk antibiotika dihasilkan dari metabolit sekunder mikroba yang pembentukannya terjadi, pada saat fase stasioner yaitu saat kepadatan selnya menjadi lebih tinggi. Hipotesis sel yang dapat diambil, pada kepadatan sel yang rendah, pertumbuhan secara cepat dan oleh sebab itu metabolisme primer merupakan prioritas utama, hanya pada saat pertumbuhan menjadi perlahan, yaitu saat kepadatan sel tinggi, menyebabkan sel mengeluarkan banyak energy untuk bisa memproduksi metabolit sekunder berupa antibiotik (4). Setelah isolat difermentasikan, isolat C tersebut disentrifuge dengan kecepatan 750 rpm selama 15 menit untuk memisahkan filtrat dan residunya, hal ini dilakukan karena mikroorganisme dapat menghasilkan antifungi diluar sel (ekstra sel) yaitu yang terdapat pada filtrat atau dapat

pula dihasilkan didalam sel mikroorganismenya (intrasel) yang terdapat pada residu(25).

Pengujian aktivitas antifungi dilakukan berdasarkan metode difusi agar dengan menggunakan *paper disc*, medium PDA (Potato Dextrosa Agar) dan *Candida albicans* sebagai mikroba uji. Daya kerja antifungi dapat dilihat pada saat isolat C yang terdapat pada *paper disc* berdifusi ke medium uji untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Daerah hambatan Actinomycetes isolat C berupa Zona bening disekitar *paper disc*. Metode ini merupakan salah satu cara untuk menguji kesanggupan antifungi dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganismenya hidup (3).

Hasil fermentasi yang dilakukan terhadap actinomycetes isolat C selama 9 hari menunjukkan bahwa ada pengaruh antara lama fermentasi dengan produksi antifungi. Data yang diperoleh memperlihatkan aktivitas antifungi paling besar yaitu pada filtrat hari ke 6 sebesar 17,25 mm, 19,15 mm, dan 16,30 mm. hal ini dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Zona hambatan Actinomycetes terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Odel SB (5) yang memperlihatkan daya hambat paling besar terjadi pada residu hari ke 5, maka terlihat adanya perbedaan hasil yang diperoleh. Hal ini dikarenakan, pada penelitian sebelumnya masih menggunakan skala tabung reaksi untuk fermentasi. pada kondisi tersebut tidak terjadi pengadukan yang baik dalam media fermentasi, juga terjadi perbedaan kadar oksigen pada skala tabung reaksi dengan Erlenmeyer. Selain itu, pada penelitian sebelumnya residu yang diperoleh langsung diuji, padahal disekitar sel masih tersisa filtrat dan daerah disekitar sel merupakan daerah yang paling pekat sehingga memungkinkan pada saat pengujian yang teruji adalah filtrat.

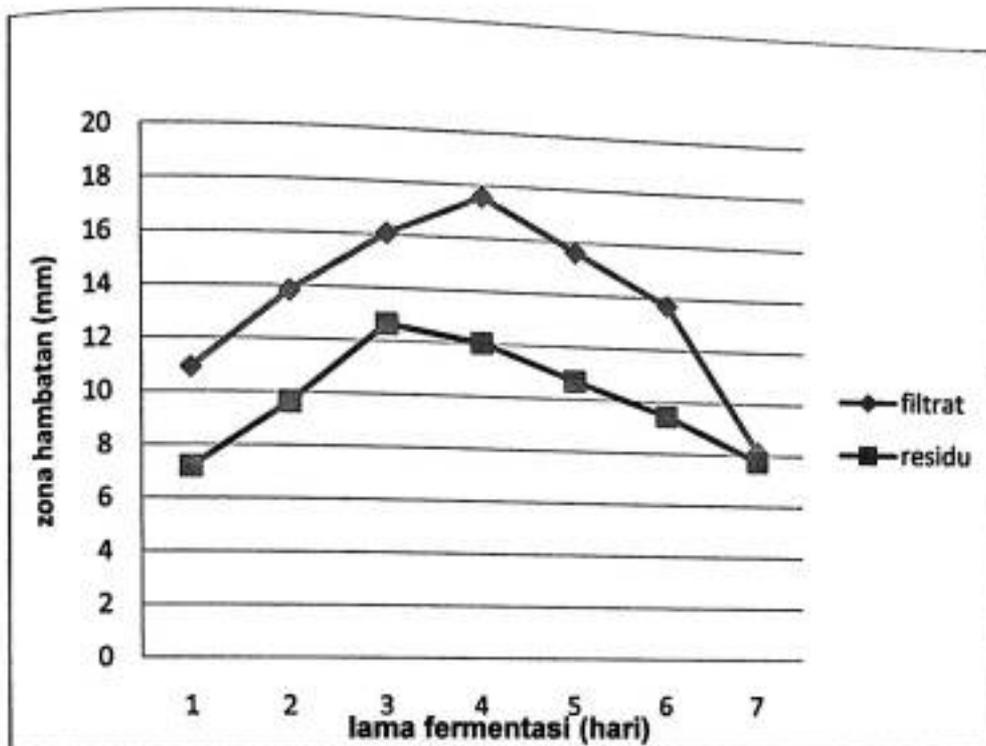
Dari data yang diperoleh jika dihubungkan dengan pustaka (12) tentang kurva pertumbuhan maka hari pertama dan kedua terjadi fase adaptasi, pertumbuhannya dipercepat dan terjadi fase pertumbuhan logaritmik karena pada saat tersebut belum terjadi penghambatan actinomycetes terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Pada hari ketiga kemungkinan terjadi fase pertumbuhan mulai terhambat, hal ini disebabkan karena pada hari ketiga sudah mulai terjadi pengurangan nutrient dan sudah mulai terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme sehingga pada fase ini mikroba mulai mengeluarkan metabolitnya. Kemudian pada hari ke 4-7 mulai masuk pada fase stasioner karena pertumbuhan mikroorganisme mulai berhenti dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dengan jumlah sel yang mati, dan puncaknya terjadi pada hari ke enam, ini dapat dilihat dari zona hambatan yang terbentuk merupakan zona hambatan terbesar actinomycetes terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Pada hari 8-9 masuk pada fase kematian logaritma hal ini dapat dilihat dari zona hambatan yang terbentuk semakin kecil karena jumlah sel yang mati terus meningkat, penyebabnya adalah karena ketidaktersediaan nutrisi.

kedalam medium MY-Broth (Maltosa Yeast Broth) hal ini dilakukan agar Actinomycetes isolat C tetap terpenuhi kebutuhan nutrisinya sehingga dapat berkembangbiak dengan baik kemudian dikocok menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm selama 1x24 jam pada suhu kamar. Penggunaan shaker bertujuan agar perkembangbiakan isolat C dan nutrisi yang terdapat didalam Erlenmeyer terbagi secara merata. Setelah dishaker selama 1x24 jam isolat C tersebut difermentasikan selama 9 hari. Pada penelitian ini dilakukan fermentasi selama 9 hari dengan variasi pengambilan Actinomycetes isolat C setiap 1x24 jam. Hal ini dimaksudkan, agar dapat diketahui waktu yang paling baik untuk memproduksi Actinomycetes isolat C yaitu saat terjadi pembentukan zat aktif antifungi yang maksimal. Kebanyakan dari produk antibiotika dihasilkan dari metabolit sekunder mikroba yang pembentukannya terjadi, pada saat fase stasioner yaitu saat kepadatan selnya menjadi lebih tinggi. Hipotesis sel yang dapat diambil, pada kepadatan sel yang rendah, pertumbuhan secara cepat dan oleh sebab itu metabolisme primer merupakan prioritas utama, hanya pada saat pertumbuhan menjadi perlahan, yaitu saat kepadatan sel tinggi, menyebabkan sel mengeluarkan banyak energy untuk bisa memproduksi metabolit sekunder berupa antibiotik (4). Setelah isolat difermentasikan, isolat C tersebut disentrifuge dengan kecepatan 750 rpm selama 15 menit untuk memisahkan filtrat dan residunya, hal ini dilakukan karena mikroorganisme dapat menghasilkan antifungi diluar sel (ekstra sel) yaitu yang terdapat pada filtrat atau dapat

pula dihasilkan didalam sel mikroorganisme (intrasel) yang terdapat pada residu(25).

Pengujian aktivitas antifungi dilakukan berdasarkan metode difusi agar dengan menggunakan *paper disc*, medium PDA (Potato Dextrosa Agar) dan *Candida albicans* sebagai mikroba uji. Daya kerja antifungi dapat dilihat pada saat isolat C yang terdapat pada *paper disc* berdifusi ke medium uji untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Daerah hambatan Actinomycetes isolat C berupa Zona bening disekitar *paper disc*. Metode ini merupakan salah satu cara untuk menguji kesanggupan antifungi dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme hidup (3).

Hasil fermentasi yang dilakukan terhadap actinomycetes isolat C selama 9 hari menunjukkan bahwa ada pengaruh antara lama fermentasi dengan produksi antifungi. Data yang diperoleh memperlihatkan aktivitas antifungi paling besar yaitu pada filtrat hari ke 6 sebesar 17,25 mm, 19,15 mm, dan 16,30 mm. hal ini dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Zona hambatan Actinomycetes terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Jika dibandingkan dengan hasil penelitian Odel SB (5) yang memperlihatkan daya hambat paling besar terjadi pada residu hari ke 5, maka terlihat adanya perbedaan hasil yang diperoleh. Hal ini dikarenakan, pada penelitian sebelumnya masih menggunakan skala tabung reaksi untuk fermentasi. pada kondisi tersebut tidak terjadi pengadukan yang baik dalam media fermentasi, juga terjadi perbedaan kadar oksigen pada skala tabung reaksi dengan Erlenmeyer. Selain itu, pada penelitian sebelumnya residu yang diperoleh langsung diuji, padahal disekitar sel masih tersisa filtrat dan daerah disekitar sel merupakan daerah yang paling pekat sehingga memungkinkan pada saat pengujian yang teruji adalah filtrat.

Dari data yang diperoleh jika dihubungkan dengan pustaka (12) tentang kurva pertumbuhan maka hari pertama dan kedua terjadi fase adaptasi, pertumbuhannya dipercepat dan terjadi fase pertumbuhan logaritmik karena pada saat tersebut belum terjadi penghambatan actinomycetes terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Pada hari ketiga kemungkinan terjadi fase pertumbuhan mulai terhambat, hal ini disebabkan karena pada hari ketiga sudah mulai terjadi pengurangan nutrient dan sudah mulai terjadi penimbunan hasil-hasil metabolisme sehingga pada fase ini mikroba mulai mengeluarkan metabolitnya. Kemudian pada hari ke 4-7 mulai masuk pada fase stasioner karena pertumbuhan mikroorganisme mulai berhenti dan terjadi keseimbangan antara jumlah sel yang membelah dengan jumlah sel yang mati, dan puncaknya terjadi pada hari ke enam, ini dapat dilihat dari zona hambatan yang terbentuk merupakan zona hambatan terbesar actinomycetes terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Pada hari 8-9 masuk pada fase kematian logaritma hal ini dapat dilihat dari zona hambatan yang terbentuk semakin kecil karena jumlah sel yang mati terus meningkat, penyebabnya adalah karena ketidaktersediaan nutrisi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan bahwa:

Lama fermentasi yang paling baik untuk menghasilkan senyawa antifungi dari Actinomycetes isolat C dengan melihat zona hambatan paling besar adalah selama 6 hari.

V.2 Saran

1. Disarankan untuk melakukan pengujian terhadap pengaruh penggunaan sumber carbon dan Nitrogen untuk meningkatkan produksi
2. Disarankan untuk melanjutkan fermentasi dalam skala yang lebih besar dengan menggunakan Fermentor
3. Disarankan untuk melakukan elusidasi struktur untuk menentukan senyawa antifunginya.

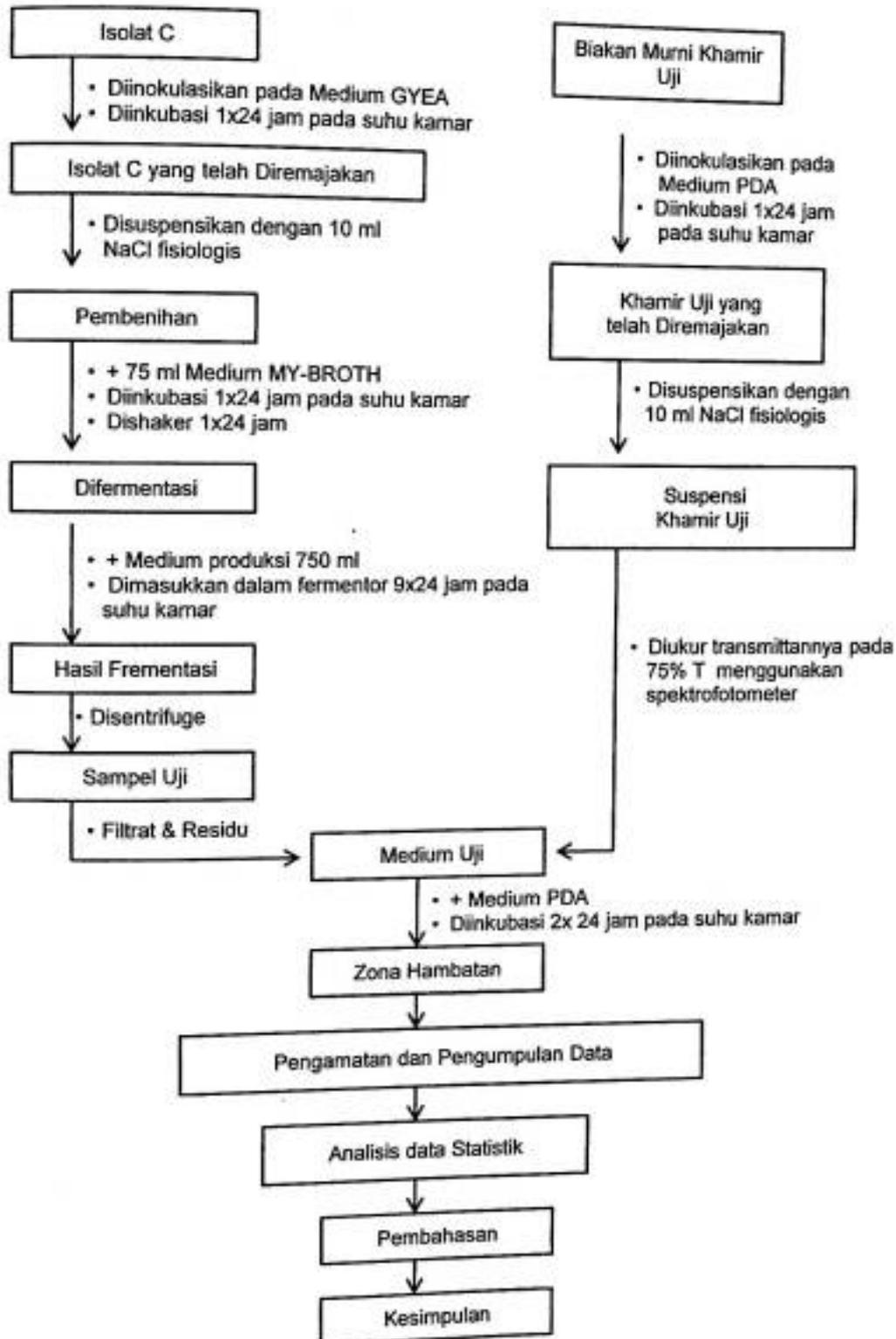
DAFTAR PUSTAKA

1. Suwandi U. *Skrining Mikroorganisme Penghasil Antibiotik, Cermin Dunia Kedokteran*. 1984 (dikutip tanggal 27 Januari 2009) No. 89. Available from: <http://www.Kalbe.co.id/Skrining>
2. Suwandi U. *Perkembangan Antibiotik, Cermin Dunia Kedokteran*. 1993 (dikutip tanggal 27 Januari 2009) No. 83. Available from: <http://www.kalbe.co.id/PerkembanganAntibiotik>
3. Haslm. Menanam Rumput Memanen Antibiotik. 2003 (dikutip tanggal 27 februari 2009). Available from: <http://www.unisoderm.org.co.id/MenanamRumputMemanenAntibiotik>.
4. Hadikoen. *Produksi metabolit sekunder dengan teknik bioteknologi*. Wordpress.com 2009 (dikutip tanggal 27 Februari 2009). Available from: <http://hadikoen>
5. Odel SB. *Isolasi Dan Karakterisasi Actinomycetes Sebagai Penghasil Antibiotika Dari Tanah Asal Kecamatan Larantuka Kabupaten Flores Timur*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin. Makassar 2008. Hal 36
6. Lay BW. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 1994. hal. 33-5.
7. Rao S. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi Kedua, Terjemahan Herawati Susilo. Universitas Indonesia Press. Jakarta. hal. 13-14.
8. Hardjowigeno S. *Ilmu Tanah*. Edisi Revisi. Akademika Presindo. Jakarta. hal. 34-69, 135, 138.
9. Pleczar MJ & Chan ECS. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid II. Terjemahan Ratna Sri Hadioetomo dkk. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 1988. hal. 2.
10. Budiyanto AK. *Mikrobiologi Terapan*. Universitas Muhammadiyah Malang Press. 2002. hal. 190-1.
11. Waluyo L. *Mikrobiologi Lingkungan*. Universitas Muhammadiyah Malang Press 2005. 282-9.

12. Fardiaz S. *Fisiologi Fermentasi*. Second University development project IBRD loan no. 2547-ind hal. 11, 15-6.
13. Pratiwi ST. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga medical series Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta. Hal. 111-7.
14. Casida JLE. *Industrial Microbiology*. Jhon Wiley and sons. Inc. New York. 1968. hal. 5, 7-9, 55, 100-13, 117, 219.
15. Turner WB. *Fungal Metabolites*. Academic Press. London and New York. 1971. hal. 16-8.
16. Andayani DGS. *Studi Aktivitas Antijamur dan Antibakteri dari Hasil Fermentasi Streptomyces S-49*. 2004 (dikutip tanggal 7 februari 2009) <http://digilib.ti.itb.ac.id>.
17. Ganiswara GS. *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. FK-UI. Jakarta. 1945. hal. 571-83, 651.
18. Tjay TH & Rahardja K. *Obat-obat Penting*. Edisi V, Cetakan I. Penerbit PT. Elex Media Komputindo, Kelompok Gramedia. Jakarta. hal. 63
19. Djide MN. & Sartini. *Mikrobiologi Farmasi Dasar*. Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNHAS. Makassar. 2006. hal. 43,45,52,57
20. Ditjen POM. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. hal. 410
21. Buchanan RE & Gibsons NE. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology. Eight Edition*. Williams and Wilkins Company. Baltimor
22. Baker. E. *Handbook Of Bacteriological Technique*. Second Edition, West Minter Medical School , London. 1974. hal 67-75
23. E. Merck. *Culture Media Handbook*. Dar, staad. 1988. Hal 131
24. Bacto Laboratory. *The Bacto of culture Media Ingredient other Laboratory Service*. Thirt Edition. 1997.
25. Waluyo L. *Mikrobiologi Lingkungan*. Universitas Muhamadiyah Malang Press 288-9.

Lampiran 1

SKEMA KERJA



$$\begin{aligned}
 \text{JK Perlakuan} &= \frac{\{(32,75)^2 + (41,5)^2 + (48,2)^2 + \dots (24,45)^2\}}{3} - \text{FK} \\
 &= \frac{12386,08}{3} - 3064,54 \\
 &= 4128,69 - 3064,54 \\
 &= 1064,15
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{JK Galat} &= \text{JK Total} - \text{JK Perlakuan} \\
 &= 1084,15 - 1064,15 \\
 &= 20
 \end{aligned}$$

Tabel Analisis Varians (ANOVA)

SK	DB	JK	KT	F hitung	F table	
					5%	1%
Perlakuan	8	1064,15	59,12	53,75 ^{ss}	2,51	3,71
Galat	18	20	1,1			
Total	26	1084,15				

Keterangan :

ss = sangat signifikan

Kesimpulan :

Karena F hitung > F tabel 5 % dan 1%, maka ada pengaruh yang sangat nyata antara lama fermentasi dan hasil fermentasi

$$\text{KK} = \frac{\sqrt{\text{KTG}}}{y} \times 100 \%$$

Lampiran II

Hasil Perhitungan Filtrat Actinomycetes isolat C dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL)

Lama fermentasi (hari)	Replikasi			Σ	X
	I	II	III		
1	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0
3	11,35	12,25	9,15	36,60	12,20
4	14,80	14,60	12,10	41,50	13,83
5	16,10	17,00	15,10	48,20	16,07
6	17,25	19,15	16,30	52,70	17,57
7	15,20	17,10	14,60	46,90	15,63
8	13,40	14,15	13,60	41,15	13,72
9	7,55	8,70	8,20	24,45	8,15
Σ	95,65	102,95	89,05	287,65	95,88
X	10,63	11,44	9,89	31,96	10,65

$$FK = \frac{(287,65)^2}{27} = 3064,54$$

$$\begin{aligned} JK \text{ Total} &= \{(11,35)^2 + (12,25)^2 + (9,15)^2 + \dots + (8,20)^2\} - FK \\ &= 4148,69 - 3064,54 \\ &= 1084,15 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\sqrt{1,1}}{10,65} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,048}{10,65} \times 100 \% \\
 &= 9,8 \%
 \end{aligned}$$

karena nilai koefisien keragaman yakni 9,8% maka dilanjutkan dengan analisis uji BNT (beda nyata terkecil)

$$\begin{aligned}
 S_y &= \sqrt{\frac{2KTG}{r}} \\
 S_y &= \sqrt{\frac{2 \times 1,1}{9}} \\
 &= \sqrt{\frac{2,2}{9}} \\
 &= \sqrt{0,244} \\
 &= 0,49
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 0,05 &= t_{0,05} \times 0,49 \\
 &= 2,101 \times 0,49 \\
 &= 1,03
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{BNT } 0,01 &= t_{0,01} \times 0,49 \\
 &= 2,878 \times 0,49 \\
 &= 1,41
 \end{aligned}$$

Pengaruh lama fermentasi	Beda riil Pada Jarak P								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
A (0)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B (0)	0	-	-	-	-	-	-	-	-
C (10,92)	10,92 ^{SS}	10,92 ^{SS}	-	-	-	-	-	-	-
D (13,83)	13,83 ^{SS}	13,83 ^{SS}	2,91 ^{SS}	-	-	-	-	-	-
E (16,07)	16,07 ^{SS}	16,07 ^{SS}	5,15 ^{SS}	2,24 ^{SS}	-	-	-	-	-
F (17,57)	17,57 ^{SS}	17,57 ^{SS}	6,65 ^{SS}	3,74 ^{SS}	1,5 ^{SS}	-	-	-	-
G (15,63)	15,63 ^{SS}	15,63 ^{SS}	4,71 ^{SS}	1,8 ^{SS}	0,44 ^{NS}	1,94 ^{SS}	-	-	-
H (13,71)	13,71 ^{SS}	13,71 ^{SS}	2,79 ^{SS}	0,12 ^{NS}	2,36 ^{SS}	3,86 ^{SS}	1,92 ^{SS}	-	-
I (8,15)	8,15 ^{SS}	8,15 ^{SS}	2,77 ^{SS}	5,68 ^{SS}	7,92 ^{SS}	9,42 ^{SS}	7,48 ^{SS}	5,56 ^{SS}	-

Keterangan :

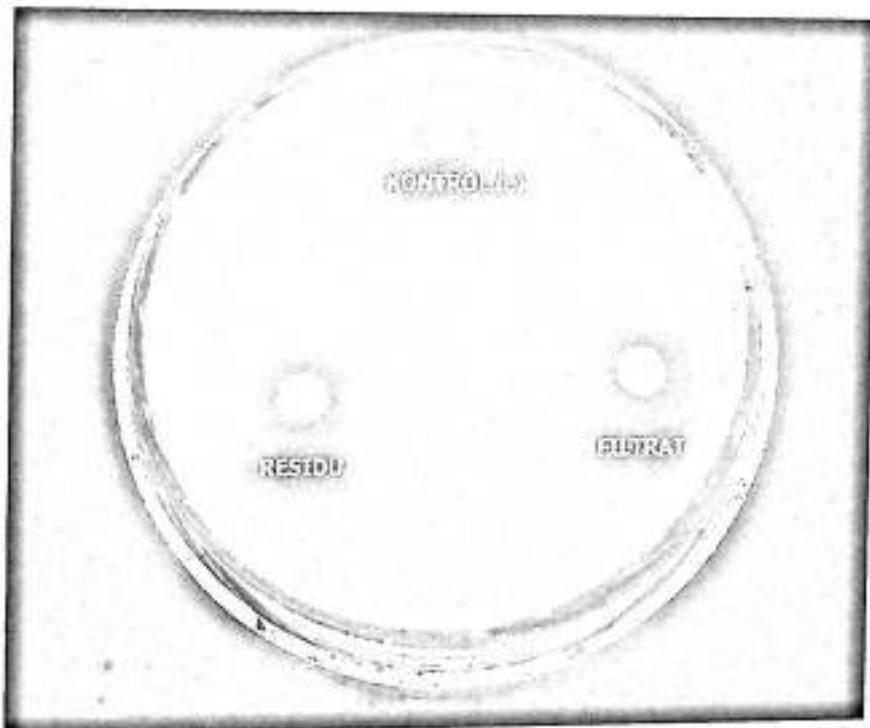
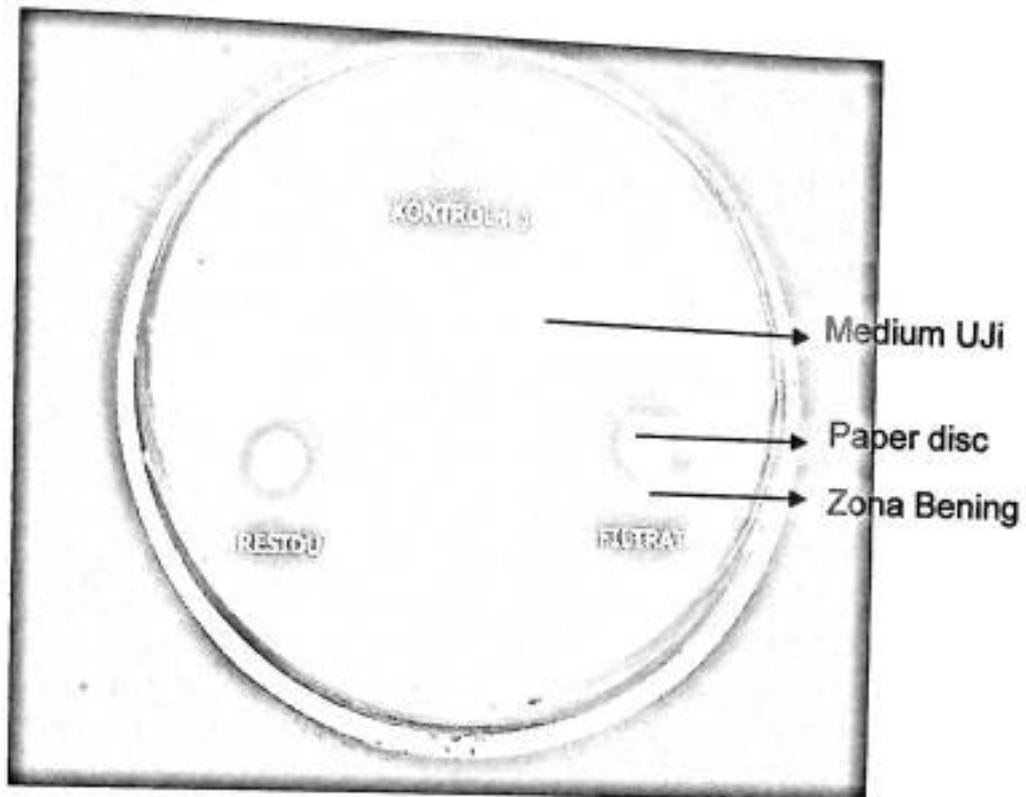
SS = Sangat Signifikan

S = Signifikan

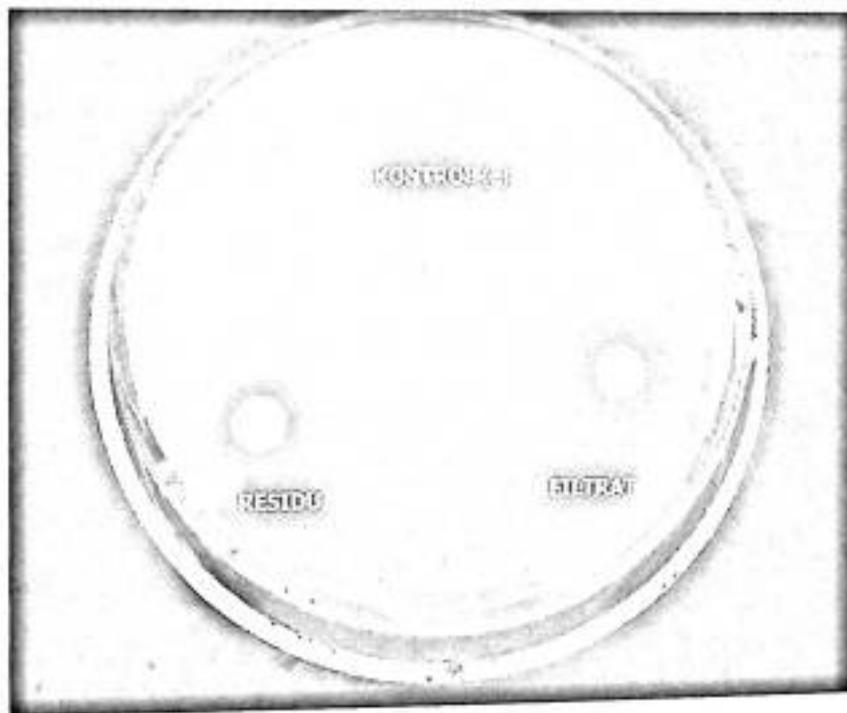
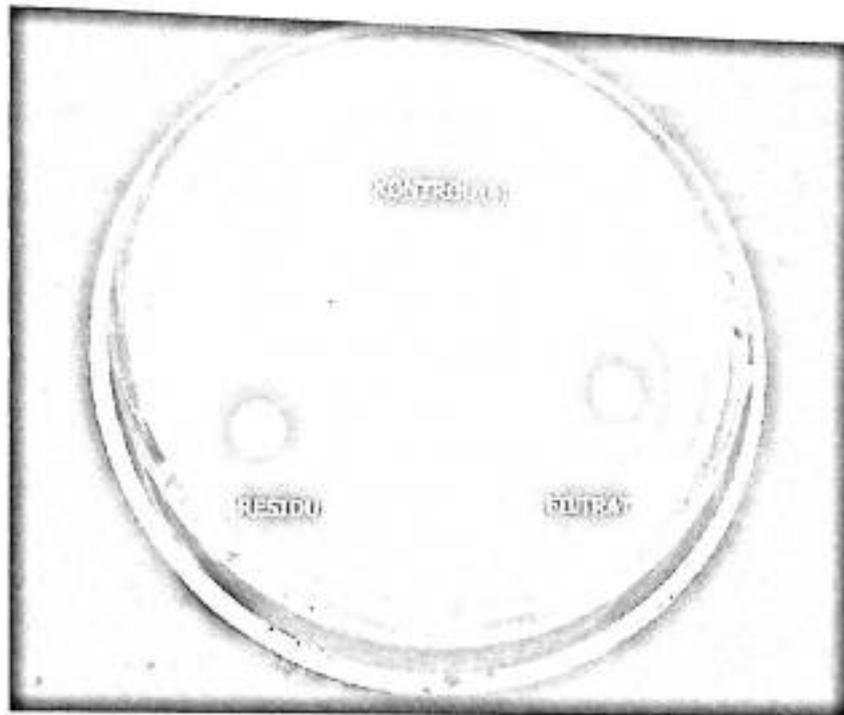
NS = Non Signifikan

Kesimpulan :

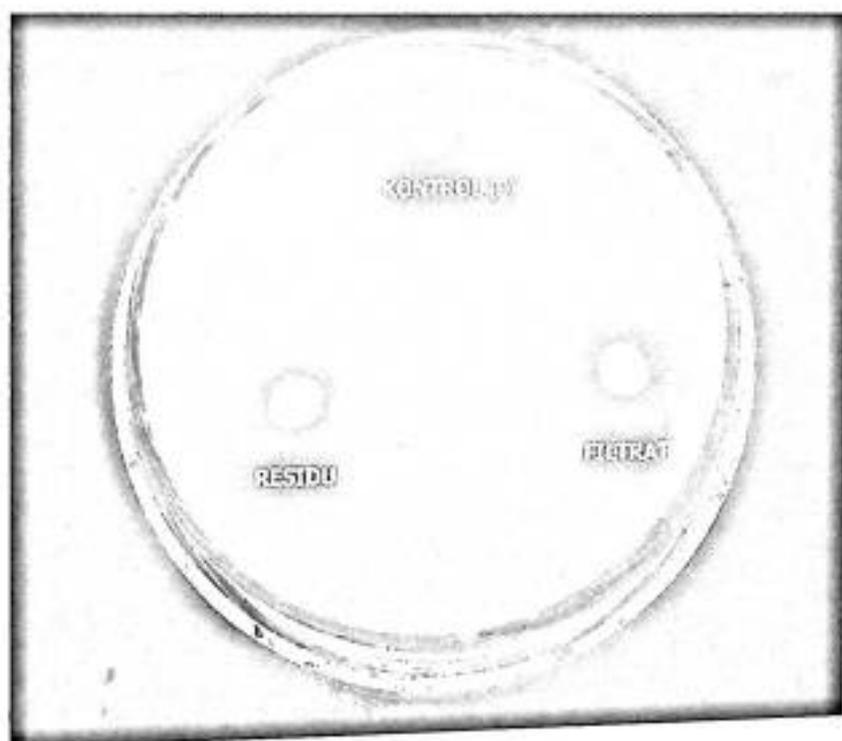
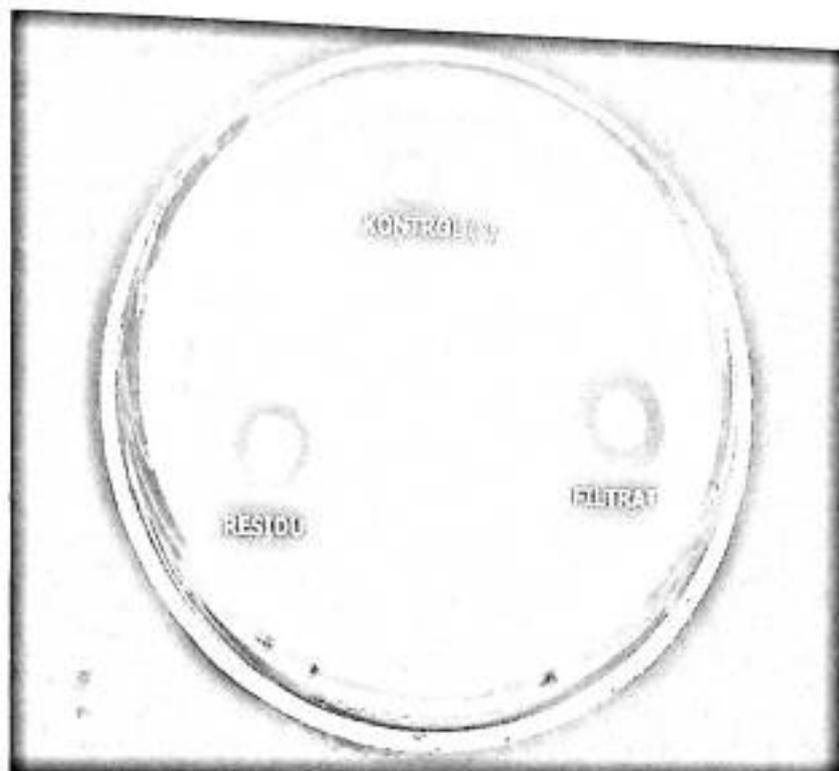
Dari hasil pengukuran daya hambat, diketahui bahwa hasil fermentasi hari ke 6 adalah yang paling besar zona hambatannya terhadap candida albicans dan setelah dilakukan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) diketahui bahwa hari ke 6 semuanya berbeda sangat nyata terhadap waktu fermentasinya.



Gambar 2. Daya hambat dari aktivitas antifungi dari hasil fermentasi hari ke 5 *Actinomycetes* isolat C terhadap *Candida albicans*.



Gambar 3. Daya hambat dari aktivitas antifungi hasil fermentasi hari ke enam Actinomycetes isolat C terhadap *Candida albicans*.



Gambar 4. Daya hambat dari aktivitas antifungi hasil fermentasi hari ke tujuh Actinomycetes isolat C terhadap *Candida albicans*.