

PEMANFAATAN LIMBAH AIR KELAPA SEBAGAI SUBSTRAT OLEH BACILLUS SUBTILIS ATCC 6051 UNTUK PRODUKSI ANTIBIOTIKA

Inherni Marti Abna

Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan Universitas Esa Unggul, Jakarta
Jalan Arjuna Utara No 9, Kebon Jeruk, Jakarta - 11510
inherni.martiabna@esaunggul.ac.id

Abstract

One part of coconut that has not been optimally utilized is the coconut water . even the coconut water itself is often a waste that just wasted. Coconut water contains sugar, nitrogen compounds, amino acids, minerals, vitamins and substances grown which is a good medium for the growth of microorganisms, especially bacteria. The good part of the content of this coconut water can be utilized as a substrate by Bacillus subtilis to produce antibiotics through fermentation process. In this research, substrate with coconut water is used at concentration 50 % v/v as substrate without coconut water (100% v/v Hanlon and Hodges media, 1981) is also used as a control. Bacillus subtilis ATCC 6051 is inoculated into the media and observed its antibiotic production capability using Micrococcus Luteus NCIMB 8945 as the test bacteria. The fermentation conditions for the production of this antibiotic was performed at 37 °C, initial pH of 7, and shaking rate 180 rpm for 48 hours. The results showed that coconut water can be used as a fermentation medium to produce antibiotics with a wider 1.60 cm inhibitory diameter when compared to that produced by the basic media of fermentation with no coconut water in it (100% Hanlon and Hodges 1981) which is 1.22 cm after 37 hours of fermentation.

Keywords: *coconut water, bacillus subtilis, antibiotik.*

Abstrak

Salah satu bagian dari buah kelapa yang belum dimanfaatkan secara optimal adalah airnya, malahan air kelapa ini sering merupakan limbah yang terbuang begitu saja. Air kelapa mengandung gula, senyawa nitrogen, asam amino, mineral, vitamin dan zat tumbuh yang merupakan media yang baik untuk pertumbuhan mikroorganisme terutama bakteri. Kandungan yang baik dari air kelapa ini dapat dimanfaatkan sebagai substrat oleh *Bacillus subtilis* untuk menghasilkan antibiotik melalui proses fermentasi. Dalam penelitian ini, digunakan air kelapa dengan konsentrasi 50 % v/v dan tanpa menggunakan air kelapa (100 % v/v media Hanlon dan Hodges, 1981) sebagai kontrol. *Bacillus subtilis* ATCC 6051 diinokulasikan ke dalam media fermentasi dan diamati kemampuan produksi antibiotiknya menggunakan *Micrococcus luteus* NCIMB 8945 sebagai bakteri uji. Kondisi fermentasi untuk produksi antibiotik ini dilakukan pada suhu 37 °C, pH awal 7, dan kecepatan pengocokan 180 rpm selama 48 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa air kelapa dapat digunakan sebagai media fermentasi untuk menghasilkan antibiotik dengan diameter hambat 1,60 cm yang lebih luas bila dibandingkan dengan yang dihasilkan oleh media dasar fermentasi tanpa penambahan air kelapa (100% media Hanlon dan Hodges 1981) yaitu 1,22 cm setelah 37 jam fermentasi.

Kata kunci: *air kelapa, bacillus subtilis, antibiotik*

Pendahuluan

Indonesia termasuk salah satu negara penghasil kelapa (*Cocos nucifera* L.) yang potensial, terutama di daerah-daerah pantai. Dari berbagai jenis tanaman industri, kelapa merupakan jenis yang serbaguna. Hampir semua bagian tubuh kelapa dapat dimanfaatkan, seperti daging, air, sabut, tempurung, daun, batang dan akar. Air kelapa sebagai limbah pengolahan kopra dan kelapa parut kering belum dimanfaatkan secara optimal.

Pembuangan air kelapa dapat merugikan karena menimbulkan polusi pada tanah akibatnya terbentuk asam asetat. Asam asetat yang terbentuk akan menurunkan pH tanah dan berpengaruh buruk terhadap tanaman, terutama padi dan palawija (Djarmiko, 1975; Nurhelmi, 1993). Salah satu alternatif untuk menanggulangi masalah tersebut adalah dengan penerapan bioteknologi, sehingga dapat dihasilkan produk baru yang mempunyai nilai tambah.

Air kelapa mengandung protein, gula, lemak, vitamin-vitamin dan zat tumbuh. Komponen kimiawi ini merupakan senyawa yang diperlukan oleh mikroorganisme terutama bakteri (Sardjono, 1998). Di samping itu air kelapa juga mengandung asam amino esensial terutama lysine, leusin, dan arginine. (Grimwood, 1975; Palungkun, 1999).

Sebelumnya Ketaren dan Jatmiko (1985), mengemukakan bahwa air kelapa mengandung zat yang dapat mempercepat pertumbuhan yaitu 1,3 dipenil urea dan indol acetic acid. Maka berdasarkan kandungannya tersebut, air kelapa memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan bahan obat, salah satunya adalah antibiotik melalui proses fermentasi.

Antibiotik didefinisikan sebagai suatu senyawa organik yang dihasilkan oleh suatu mikroorganisme yang terdapat pada cairan dalam jumlah yang kecil, menghambat pertumbuhan atau membunuh

mikroorganisme lain. Definisi ini tidak meliputi bahan-bahan yang diekstraksi dari tanaman atau sumber-sumber non mikrobial, juga tidak meliputi asam organik atau asam amino yang dapat menghambat pertumbuhan microbial (Judoamidjojo, 1992). Definisi yang sama juga diberikan Beishir (1991), Kelly dan Eileen (1955), serta Schlegel dan Schmidt (1994), yang menyatakan bahwa antibiotik adalah suatu produk dari mikroorganisme hidup yang menghancurkan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme lainnya.

Kira-kira 75 % antibiotik yang diketahui diproduksi oleh *Streptomyces*, 20 % oleh jamur dan 5 % oleh *Bacillus*. Antibiotik yang dihasilkan oleh *Bacillus* kebanyakan merupakan antibiotik polipeptida seperti polimiksin, basitrasin, gramisidin, dan tirosidin (Hammond dan Lambert, 1981). Antibiotik polipeptida bersifat bakterisidal terutama terhadap bakteri Gram Positif antara lain *Staphylococcus*, *Streptococcus*, dan *Micrococcus*, juga efektif terhadap beberapa mikroorganisme Gram Negatif seperti *Meningococcus*, *Gonococcus*, dan *Haemophilus influenzae* (Volk dan Wheeler, 1993; Siswandono dan Sukarjo, 1995).

Metode Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan antara lain: cawan petri 50 ml, tabung reaksi, pembakar bunsen, jarum ose, corong kaca, erlenmeyer 1000 ml, erlenmeyer 500 ml, bekkor glass 500 ml, bekkor glass 1000 ml, *orbital-shaker incubator*, autoklaf, timbangan listrik, inkubator, lemari pengering (oven), freezer, lemari pendingin suhu 0-4°C, lemari asam, *mikrosentrifuga eppendorf*, kompor listrik, *waterbath*, *hot plate magnetic stirrer*, *magnetic stirrer*, pH meter (Backman), Spektrofotometer Shimadzu UV-120-02, *disposable cuvet*, spatula, vortex, gelas ukur, labu ukur, pipet ukur, pipet tetes,

laminar air flow, jangka sorong, pipet tip, mikropipet, tabung mikrosentrifuga eppendorf, foto mikroskop, kaca objek, kaca penutup, pelobang agar dan labu semprot.

Bahan

Bahan yang digunakan limbah air kelapa yang diambil secara *purposive sampling*, biakan murni *Bacillus subtilis* ATCC 6051 dan *Micrococcus luteus* NCIMB 8945, air kaldu, pepton, air suling, agar bacto, NaH_2PO_4 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, H_3BO_3 , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, KI, H_2SO_4 pekat NaCl 0,1 M, HCL 2N, NaOH 2N, NH_4Cl , Glukosa, alkohol 70%, spiritus, kapas, kertas label, aluminium foil, benang, kain kassa, kertas saring, fenol, natrium hipoclorid, sodium nitroprusid, larutan buffer pH 7, larutan buffer pH 6, dan antibiotik basitrasin standar.

Pembuatan Medium Nutrient Agar (NA) dan Nutrient Broth (NB)

Ditimbang secara seksama beef ekstrak 3 gram, pepton 5 gram, dan agar bacto 15 gram kemudian dimasukkan ke dalam bekkor glass 1000 ml, lalu ditambahkan air suling 1L. Kemudian dipanaskan hingga homogen sambil dikocok dengan *magnetic stirrer*, pH diatur menjadi 7 dengan penambahan larutan NaOH. Pemanasan selama 20 menit. Air yang menguap selama pemanasan diganti dengan air suling sampai volume semula. Setelah itu larutan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditutup dengan kapas serta aluminium foil, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C, tekanan 15 lbs selama 15 menit. Medium yang telah disterilkan tersebut sebagian dimasukkan ke dalam tabung reaksi steril masing-masing 5 ml dan ditutup dengan kapas lalu dimiringkan kira-kira 30° terhadap bidang datar, dan dibiarkan sampai menjadi padat, lalu

disimpan di dalam lemari es. Medium NA ini digunakan untuk perbanyakkan biakan murni dan sebagai medium untuk uji aktifitas antibiotik. Sedangkan untuk medium Nutrient Broth (NB), pembuatannya sama dengan pembuatan medium Nutrient Agar (NA), tetapi tanpa penambahan agar Bacto. Medium NB digunakan untuk media kultivasi mikroba.

Pembuatan Media Dasar Fermentasi Antibiotik

Masing-masing bahan media dasar fermentasi (table 1 dan 2) ditimbang dengan seksama, dilarutkan dalam air suling. Kemudian dipanaskan dan dikocok sampai homogen menggunakan *hotplate magnetic stirrer*. Air yang menguap ketika pemanasan diganti dengan penambahan air suling sampai volume semula, pH diatur menjadi 7. Kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer sesuai kebutuhan dan mulutnya disumbat dengan kapas dan ditutup dengan aluminium foil, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada tekanan 15 lbs, suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah didinginkan media siap untuk digunakan. Susunan media dasar fermentasi yang digunakan dibuat berdasarkan Hanlon dan Hodges (1981) sebagai berikut:

Tabel 1

Komposisi Media Dasar Fermentasi

Nama Bahan	Jumlah
NH_4Cl	5,00 mM
Na_2HPO_4	5,68 gr
KH_2PO_4	3,54 gr
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,12 gr
Glukosa	36,00 mM
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,15 gr
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,003 gr
Larutan Element	Trace 2,5 ml
Air Suling sampai dengan	1000,00 ml

Tabel 2
Komposisi Trace Element (Ciawi, 1997)

Nama Bahan	Jumlah
MnCl ₂ .4H ₂ O	1,98 gr
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,25 gr
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,29 gr
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,12 gr
H ₃ BO ₃	0,31 gr
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,12 gr
KI	0,08 gr
Air suling sampai dengan	1000,00 ml

Peremajaan Biakan Murni Bakteri Starter dan Bakteri Uji

Biakan murni *Bacillus subtilis* diperoleh dari Pusat Kultur *American Type Collection Culture (ATCC)* melalui Perum Biofarma Bandung. Biakan murni *Micrococcus luteus* didapatkan dari Pusat Kultur *National Collection of Industrial and Marine Bacteria Aberdeen Scotland (NCIMB)* melalui Laboratorium Mikrobiologi Pusat Penelitian Antar Universitas Bidang Bioteknologi Institut Teknologi Bandung. Biakan yang sudah murni tersebut diperbanyak dengan ditanamkan pada media agar miring secara streak plate dilakukan secara aseptis kemudian diinkubasikan masing-masing pada suhu 37°C dan 30°C selama kurang lebih 24 jam, setelah itu disimpan pada suhu 0-4°C. Tiap lima belas hari dilakukan pemindahan biakan pada agar miring baru.

Penyediaan Inokulum

Sebanyak 2 ose diinokulasikan biakan murni *Bacillus subtilis* dari biakan miring ke dalam medium NB (50 ml), lalu dikocok dalam *orbital shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kemudian dari medium NB tersebut, dipipet sebanyak 10 % lalu dimasukkan ke dalam medium NB berikutnya sebanyak 50 ml dan dikocok lagi dengan *orbital shaker incubator* selama 7 jam dengan kecepatan 180 rpm pada suhu 37 °C, ini disebut inokulum I. Selanjutnya sebanyak 10 % dari medium

inokulum I dipipet ke dalam medium inokulum II yang terdiri dari campuran air kelapa dan medium NB dengan perbandingan 1:1 dan dikocok pada *orbital shaker incubator* pada kondisi yang sama dengan pengocokan sebelumnya selama 7 jam. Kemudian sebanyak 10% dari medium inokulum II dipipet ke dalam medium inokulum III yang terdiri dari campuran medium dasar fermentasi Hanlon & Hodges (1981) dan air kelapa dengan perbandingan 1:1 dan dikocok kembali dengan kondisi yang sama dengan pengocokan sebelumnya selama 4 jam. Larutan pada medium inokulum III selanjutnya dapat dijadikan starter untuk media fermentasi.

Penentuan Kurva Pertumbuhan *Bacillus subtilis*

Waktu fermentasi dan waktu kapan inokulum dimasukkan ke dalam media fermentasi ditentukan berdasarkan kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis*, yaitu dengan cara menginokulasikan 2 ose biakan murni ke dalam medium Nutrient Broth (NB), kemudian dikocok dengan *orbital shaker incubator* pada kecepatan 180 rpm selama 24 jam dengan suhu 37 °C. Setiap jam dilakukan penyamplingan yaitu dengan memipet 1 ml larutan kultur untuk dimasukkan ke dalam kuvet disposable dan dilakukan pengukuran *Optical Density (OD)* dengan menggunakan *Spektrofotometer* (Shimadzu UV-120-02) pada panjang gelombang 580 nm. Kemudian dibuat kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* dengan waktu sampling sebagai sumbu X dan OD sebagai sumbu Y. Sementara itu tiap-tiap jam juga diambil 1,5 ml larutan kultur untuk diisolasi dan duji aktivitas antibiotiknya. Penentuan kurva pertumbuhan juga dilakukan terhadap bakteri *Micrococcus luteus*.

Fermentasi

Fermentasi dilakukan dengan memakai dosis starter 10 % (v/v) dan konsentrasi air kelapa 50 % (v/v) dicampur dengan media dasar fermentasi dengan perbandingan 1:1. Fermentasi dilakukan dengan volume kerja erlenmeyer 200 ml dan Erlenmeyer 500 ml. Media kemudian dikocok dengan *orbital shaker incubator* dengan kecepatan 180 rpm pada suhu 37 °C selama 48 jam. Setiap 2 jam dilakukan penyamplingan dengan menggunakan pipet ukur steril, 1 ml dimasukkan ke dalam kuvet disposable dan dilihat OD-nya dengan spektrofotometer, dan 1,5 ml dimasukkan ke dalam tabung *mikrosentrifuga eppendorf* steril dan dimasukkan ke dalam freezer, untuk selanjutnya diisolasi dan diuji aktifitas antibiotiknya, kadar gula sisa, dan pH media fermentasi.

Isolasi Antibiotik

Larutan antibiotik dari media fermentasi yang masih beku di dalam tabung mikrosentrifuga eppendorf steril dikeluarkan dari lemari es. Kemudian larutan tersebut diisolasi dengan sentrifugasi media fermentasi dengan kecepatan 12.000 rpm selama 4 menit pada suhu 4 °C, kemudian dipipet supernatant (larutan antibiotik) dan dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuga eppendorf steril baru, kemudian disimpan dalam lemari pendingin suhu -20 °C (freezer).

Analisis Gula Pereduksi

Analisis gula pereduksi dilakukan dengan metode kolorimetri fenol asam sulfat dengan cara sebagai berikut. Keluarkan filtrat sampel antibiotik yang masih beku dari freezer -20 °C, diamkan pada suhu ruang sampai cair lebih kurang 20 menit sambil tetap ditaruh dalam baki berisi pecahan-pecahan es. Siapkan deret tabung reaksi sebanyak sampel yang akan diuji. Standarisasi Spektrofotometer dengan blangko yang terdiri dari 1 ml air

suling, 1 ml fenol, dan 5 ml H₂SO₄ pekat, kemudian dihomogenkan dengan vortex mixer dan diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit. Ambil cairan fermentasi (sampel) secara aseptis sebanyak 50 µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi ditambahkan air suling, sampai volume mencapai 5000 µl. Dari larutan tersebut diambil sebanyak 500 µl ditambahkan 500 µl fenol dan 2,5 ml H₂SO₄ pekat. Larutan-larutan tersebut dihomogenkan dengan vortex mixer dan diinkubasi pada suhu ruang selama 20 menit. Setelah itu ukur OD-nya menggunakan Spektrofotometer (Shimadzu UV-120-02) pada panjang gelombang 570 nm. OD yang didapat kemudian dibandingkan dengan OD glukosa standar. (Whistler dkk,1962)

Analisis Produk Antibiotik

Produk antibiotik yang dihasilkan dapat ditentukan jumlahnya dengan metode difusi agar, menggunakan bakteri penguji *Micrococcus luteus* NCIMB 8945. Salah satu metode difusi agar yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode sumur. Mula-mula dibuat larutan antibiotik standar basitrasin yang telah diketahui konsentrasinya. Pelarut yang digunakan adalah larutan buffer pH 6. Bila larutan standar ini belum digunakan dapat disimpan di dalam freezer. *Micrococcus luteus* yang akan digunakan digoreskan pada agar miring (NA), kemudian diinkubasi selama 18-20 jam pada suhu 30 °C, Selanjutnya, 2 ose *Micrococcus luteus* ditumbuhkan dalam medium kaldu nutrisi (NB), kemudian dikocok dalam *orbital shaker incubator* selama 5 jam kecepatan 180 rpm kemudian dilakukan penyamplingan tiap-tiap jam dan diamati OD-nya dengan spektrofotometer (Shimadzu) pada panjang gelombang 580 nm. Apabila OD-nya telah mencapai 0,8 maka pengocokan dihentikan. Setelah itu sebanyak 1 ml suspensi bakteri di dalam NB dimasukkan ke dalam medium NA (50ml) di dalam tabung Erlenmeyer yang

telah dicairkan dalam *waterbath* sampai suhu 40 °C. (Fryshov,1984)

Medium kemudian dikocok sampai homogen, kemudian dituang dalam cawan petri steril. Biarkan medium membeku beberapa saat, setelah itu dilobangi dengan pelobang agar sesuai perlakuan. Kemudian sebanyak 50 µl filtrat sampel antibiotik dan basitrasin standar yang telah dicairkan ditetaskan dengan *mikro pipet* ke dalam masing-masing lobang tersebut. Setelah itu cawan petri diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24 jam. Efek anti mikroba dan jumlah antibiotik yang dihasilkan ditentukan dengan ada atau tidaknya dan besar kecilnya diameter hambatan pertumbuhan (zona bening). Diameter zona ini diukur dengan menggunakan jangka sorong. Diameter yang terbentuk kemudian dibandingkan dengan diameter yang dibentuk oleh larutan basitrasin standar.

Hasil dan Pembahasan Penentuan Biomassa (Jumlah Sel) *Bacillus subtilis*

Jumlah sel *Bacillus subtilis* dihitung dengan metoda spektrofotometer yaitu dengan melihat *optical density* dari kultur mikroba, caranya yaitu dengan mengambil cairan sample 1,5 ml dan dimasukkan ke dalam kuvet disposable tiap-tiap jam. Kemudian diamati OD-nya menggunakan Spektrofotometer dibandingkan dengan blanko medium (Cappucino dan Sherman, 1983)

Dari hasil penelitian tentang pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, seperti dapat dilihat pada gambar 1, bahwa pada jam ke-0 (OD = 0,19) sampai jam ke-5 (OD =1,03) mengalami fase eksponensial. Pertumbuhan sel berjalan stabil dan cenderung konstan mulai jam ke-6 (OD =1,07). Fase stasioner ini berlangsung sampai jam ke-51 dengan OD berkisar pada angka 1,15.

Dari kurva pertumbuhan tersebut terlihat bahwa fase lag tidak ada. Hal ini

disebabkan karena dilakukan inkubasi secara bertahap , yang dimulai dengan pemindahan *Bacillus subtilis* ke dalam kaldu nutrisi. Pada saat *Bacillus subtilis* dalam kaldu nutrisi mencapai nilai OD = 0,8 dilakukan pemindahan ke media pertumbuhan tahap pertama selama 6 jam dan dilanjutkan dengan media pertumbuhan tahap kedua selama 4 jam, seterusnya pemindahan dilakukan pada media pertumbuhan tahap ke-3, yang komposisi mediana sama dengan media produksi. *Bacillus subtilis* pada tahap ke-3 tersebut dipindahkan ke media fermentasi. Media pertumbuhan ini diinkubasi selama 51 jam. Jumlah inokulum yang digunakan adalah 10% v/v sesuai petunjuk Ciawi (1997).

Pemindahan bakteri secara bertahap tersebut menyebabkan inokulum berada dalam keadaan aktif dan komposisi media inokulum yang sama dengan media fermentasi menyebabkan bakteri langsung memasuki fase eksponensial tanpa melalui fase lag terlebih dahulu. Hal ini sesuai dengan pendapat Rahman (1989) bahwa lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh volume inokulum dan kondisi fisiologinya. Selain itu didapatkan juga bahwa pertumbuhan bakteri pada media kontrol dan pada media yang menggunakan air kelapa didapatkan kurva pertumbuhan yang hampir sama. Hal ini disebabkan karena sumber gula yang digunakan sama yaitu glukosa.

Penentuan Konsumsi Gula Total

Pada sampel yang menggunakan media kontrol (0% v/v air kelapa) seperti terlihat pada gambar 3, kadar gula awal yang terdapat dalam media adalah 38,57 mM. Untuk selanjutnya, konsentrasi gula total sisa menurun dengan tajam sampai jam ke-8 yaitu 1,73 mM. Pada saat pertumbuhan bakteri memasuki jam ke-9, jumlah gula pada media hampir mencapai titik 1 dan pada jam ke-37 gula dalam media sudah habis. Hal ini menunjukkan

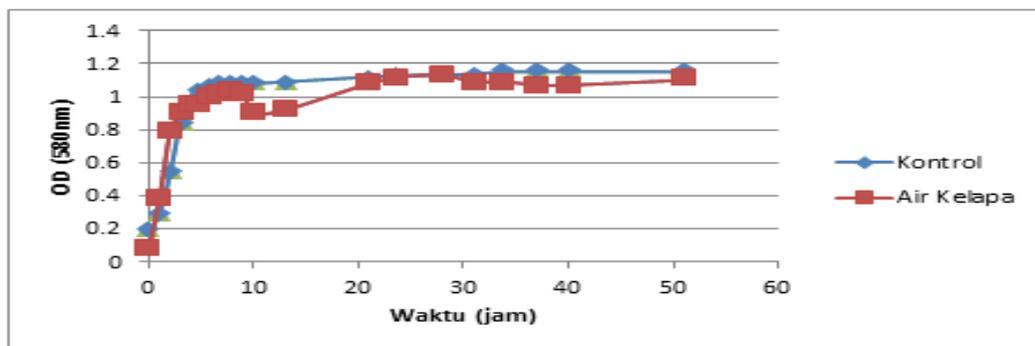
bahwa bakteri mengonsumsi seluruh gula yang tersedia sebagai sumber energi bagi pertumbuhannya.

Pada sampel yang menggunakan 50 % v/v air kelapa kadar gula total sisa dalam media menurun dengan tajam mulai jam ke-0 sampai jam ke-21, yaitu dari 163,80 mM menjadi 7,26 mM. Pada jam ke-31 sampai jam ke-51 konsentrasi gula total sisa pada media telah mencapai titik 0.

Dari hasil penelitian dapat dilihat bahwa konsentrasi gula total sisa dalam media menurun dengan berjalannya waktu. Pada saat bakteri mengalami fase pertumbuhan cepat (yang berlangsung kurang dari 10 jam), konsumsi gula sebagai sumber karbon sangat aktif, karena bakteri memerlukan nutrisi sebagai sumber energi untuk melakukan metabolisme bagi pertumbuhannya. Setelah 10 jam, kecepatan konsumsi gula menurun secara bertahap, sampai jumlah gula dalam media hampir habis. Pada media yang menggunakan air kelapa (50 % v/v), terlihat bahwa jumlah gula awal semakin banyak. Hal ini disebabkan karena kadar gula dalam air kelapa (glukosa) banyak, dan pada pencampurannya dengan media Hanlon dan Hodges (1981) jumlah gula awal yang terdapat dalam media juga banyak.

Produksi Antibiotik

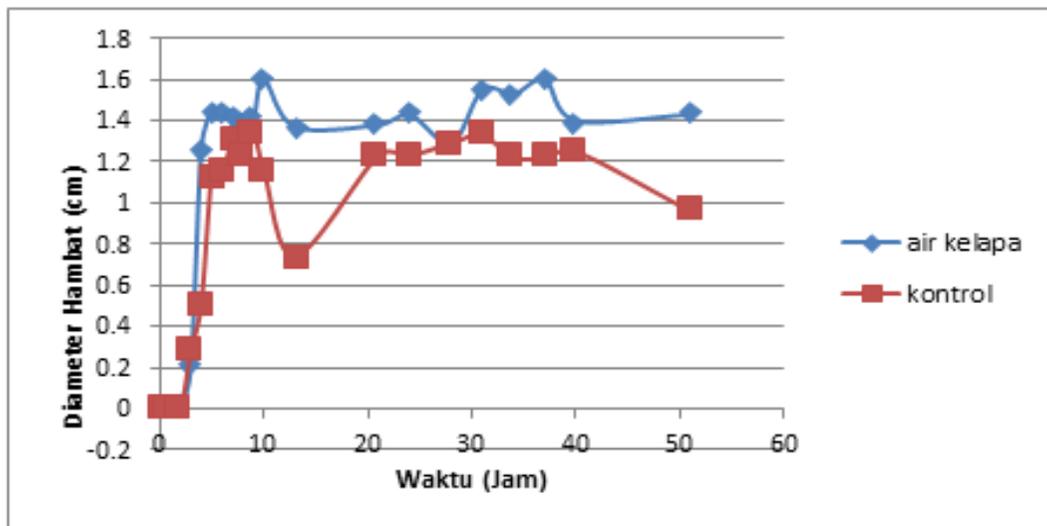
Pengukuran kadar basitrasin pada percobaan ini menggunakan metode difusi agar. Pengukuran ini memanfaatkan agar nutrisi yang mengandung mikroba uji *Micrtococcus luteus* yang merupakan bakteri Gram positif. Pada media fermentasi yang menggunakan air kelapa (50 % v/v) (gambar 2), antibiotik mulai terbentuk pada jam ke-3 dengan diameter hambat sebesar 0,20 cm. Kadar antibiotik yang tertinggi diperoleh pada jam ke-37 dengan diameter hambat sebesar 1,60 cm. Untuk kadar gula total sisa media pada jam ke-37 tersebut 0 mM yang berarti bahwa gula sudah tidak terdapat lagi di dalam media fermentasi. Menurut Judoamidjojo (1990), keterbatasan zat nutrisi gula tersebut menyebabkan terakumulasinya inducer enzim metabolit sekunder dan terlepasnya gen-gen untuk sintesis metabolit sekunder dari represi katabolit. Selain itu dari grafik juga terlihat bahwa diameter hambat yang dihasilkan pada media fermentasi menggunakan air kelapa lebih luas dibandingkan dengan media tanpa air kelapa. Untuk pH optimum media fermentasi pada saat dihasilkan kadar antibiotik tertinggi adalah 5.



Gambar 1

Kurva pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada medium air kelapa (50% v/v) dan kontrol tanpa air kelapa (100% v/v).0

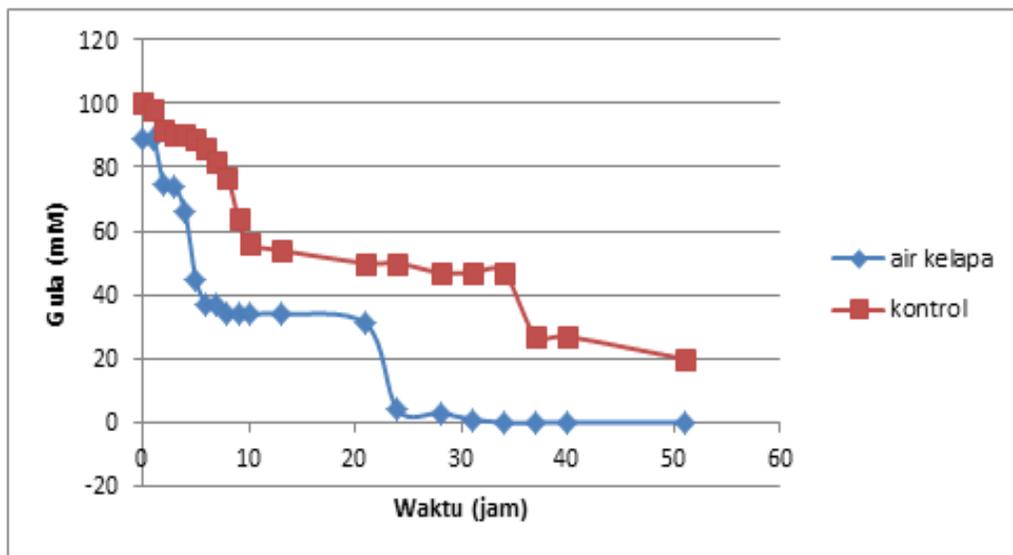
Sumber: Media Hanlon &Hodges, 1981.



Gambar 2

Kurva aktivitas antibiotik (diameter hambatan) pada medium air kelapa (50% v/v) dan kontrol tanpa air kelapa (100% v/v)

Sumber: Media Hanlon &Hodges, 1981.



Gambar 3

Kurva kadar gula total sisa pada medium air kelapa (50% v/v) dan kontrol tanpa air kelapa (100% v/v)

Sumber: Media Hanlon &Hodges, 1981.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan mengenai pemanfaatan limbah air kelapa (*Cocos nucifera L*) untuk menghasilkan antibiotik maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

Limbah Air kelapa dapat digunakan sebagai substrat untuk produksi antibiotik.

Pada media fermentasi yang menggunakan limbah air kelapa (50 % v/v) dihasilkan antibiotik dengan diameter hambat terluas sebesar 1,60 cm setelah 37 jam fermentasi.

Pada media fermentasi yang menggunakan air kelapa dengan konsentrasi 50 % v/v menghasilkan rata-rata kadar antibiotik lebih tinggi bila dibandingkan dengan media fermentasi kontrol tanpa menggunakan air kelapa (100 % v/v media Hanlon dan Hodges, 1981).

Daftar Pustaka

- Beishir, L. (1991). *Microbial and Practice*, Harper Collins Publishers Inc. Newyork.
- Ciawi, Y. (1996). *Mengenal Basitrasin Suatu Antibiotika Polipeptida*, Jurnal Teknologi Industri Proses dan manufaktur Rekayasa, Fakultas Teknologi Industri Universitas Parahyangan, Bandung.
- Ciawi, Y. (1997). *Bacitracin Production by Bacillus licheniformis NCIMB 8874* Proceedings of The Indonesian Biotechnology Conference, Vol 1, Biotechnology Consortium , Jakarta
- Daykin, P.W., Baillier, Tindall, & Cox. (1960). *Veterinary Applies Pharmacology Therapeutics*, London.
- Fryshov. (1984). *The Bacitracins: Properties, Biosynthesis and Fermentation* In Vandamme, E.J., ed., *Biotechnology of Industrial Antibiotic*, Marcel Dekker Inc. New York.
- Hammond, S.M.and Lambert, P.A. (1981). *Antibiotics and Antimicrobial Action*, The CamelotPress Ltd., Birmingham.
- Hanlon, G.W.and Hodges, N.A. (1981). *Bacitracin and Protease Production in Relation to Sporulation During Exponential Growth of Bacillus licheniformison Poorly Utilized Carbon and Nitrogen Sources*, Journal of Bacteriology, p. 127-131
- Judoamidjodjo, M. (1992). *Teknologi Fermentasi*, Penerbit rajawali Perss, Jakarta
- Kelly, Florence C. dan K. Eileen. (1955). *Microbiology*, Appleton Century Crofts, Inc,USA
- Ketaren, S.dan Jatmiko, B. (1985). *Daya Guna Hasil Kelapa*, Agro Industri Press , Bogor
- Palungkun, R. (1999). *Aneka Produk Olahan Kelapa* , Penebar Swadaya, Jakarta
- Schlegel, Hans G dan K. Schmidt. (1994). *Mikrobiologi Umum (Terjemahan)*, Gadjah Mada University Press , Yogyakarta
- Siswandono dan B Sukarjo (1995). *Kimia Medisinal* , Airlangga University Press, Surabaya

Volk, Wesley Adan Margaret F Wheeler,
(1993). *Mikrobiologi Dasar*
(*Terjemahan*), Penerbit Erlangga,
Jakarta

Whistler, Roy L; Wolfrom, M.L.; Miller,
James N ;Shafizadeh, F. (1962).
Methods In carbohydrate
Chemistry, Analysis and
Preparation , Volume I, Academic
Press, New York