

RINGKASAN

Produksi antibiotik cephalosporin C oleh *Cephalosporium acremonium* dilakukan melalui proses fermentasi yang menggunakan CSL (*Corn Steep Liquor*) sebagai bahan dasar media. *Corn Steep Liquor* merupakan bahan impor yang harganya mahal, sehingga secara teknoekonomi tidak ekonomis digunakan untuk memproduksi cephalosporin C di Indonesia. Berkenaan dengan hal tersebut dilakukan pengembangan media lokal dengan menggunakan bahan lokal yang dapat berfungsi sebagai sumber karbon dan nitrogen yaitu jagung, kacang kedelai dan kacang hijau. Hasil analisis proksimat dengan metode Somogji untuk kadar karbon dan metode Kjeldahl untuk kadar nitrogen diperoleh hasil rasio C : N sebagai berikut ; CSL 5 : 1, Jagung 1 : 1, Kacang Kedelai 1 : 2 dan kacang Hijau 2 : 1. Jumlah biomassa *Cephalosporium acremonium* dalam media vegetatif dianalisis melalui nilai PMV (*Press Mass Volume*), sekaligus untuk menentukan kurva pertumbuhan. Hasil uji PMV menunjukkan jumlah biomassa dalam media CSL paling tinggi dan paling cepat pertumbuhannya, sedangkan pada media lokal hampir bersamaan. Proses fermentasi untuk menghasilkan antibiotik cephalosporin C dilakukan selama 120 jam. Konsentrasi cephalosporin C pada akhir proses fermentasi diukur melalui HPLC, diperoleh hasil sebagai berikut ; CSL 180 ppm, Jagung 1000 ppm, Kacang Hijau 860 dan Kacang Kedelai 435 ppm. Media CSL menghasilkan cephalosporin C paling rendah sedangkan jagung paling tinggi. Bila dikaitkan dengan rasio C : N tampak nyata pengaruh dari konsentrasi unsur karbon dan nitrogen dalam media. Konsentrasi cephalosporin C tidak menunjukkan adanya hubungan dengan jumlah biomassa *C. acremonium* dalam medium atau *Non Growth Associated*.

Unsur karbon dan nitrogen dapat merepresi gen *cefEF* yang menyandikan enzim DAOCS dan DAOCH yang terdapat dalam lintasan biosintesis cephalosporin C, akibatnya konversi penicillin N menjadi cephalosporin C diakumulasi sehingga konsentrasi cephalosporin C pada akhir proses fermentasi rendah. Kasus seperti ini tampak jelas pada media CSL. Metode yang dapat digunakan untuk mengatasi masalah tersebut adalah teknik rekayasa genetik. Kloning gen *cefEF* dalam plasmid vektor dapat meningkatkan konsentrasi enzim DAOCS/DAOCH, sehingga bila level enzim DAOCS/DAOCH tinggi didalam lintasan biosintesis cephalosporin C, represi oleh karbon dan nitrogen dapat diatasi. Isolasi DNA kromosom yang berisi gen *cefEF* dilakukan melalui penggerusan sel didalam Nitrogen cair sehingga sel dapat mudah dipecah oleh bufer lisis. Sel *C. acremonium* tidak dapat dipecah oleh lysozime karena dinding selnya mengandung kitin. Fragmen 7 kb DNA berisi gen *cefEF* diisolasi melalui pemotongan DNA kromosom oleh enzim *Bam*HI. Fragmen DNA tersebut dikloning dengan plasmid vektor pHB201 yang juga telah dipotong dengan enzim *Bam*HI, lalu disambungkan oleh enzim ligase. Perbanyak plasmid rekombinan pHB201 dengan fragmen 7 kb berisi gen *cefEF* dilakukan dengan mentransformasikan plasmid rekombinan kedalam *E. coli* DH5 α yang sudah dikompetenkan dengan perlakuan Kalsium Klorida dingin. Seleksi transforman dengan metode X-gal + IPTG (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-Galaktopiranosida + isopropyl thiogalaktosida). Koloni putih menunjukkan mengandung plasmid rekombinan. Plasmid rekombinan dari koloni transforman dibuktikan kembali melalui amplifikasi gen *cefEF* dengan primer spesifik pada PCR. Adanya fragmen hasil amplifikasi membuktikan rekombinan tersisip gen *cefEF*.