

PERTUMBUHAN DAN PENGENDALIAN MIKROORGANISME II

Oleh : Dra. Yanti Hamdiyati, M.Si

TPU: Mahasiswa dapat memahami faktor-faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganismenya

TPK:

- Setelah ditugaskan membaca mahasiswa dapat menjelaskan fase-fase pada kurva pertumbuhan mikroorganismenya.
- Melalui latihan soal mahasiswa siswa dapat menentukan kecepatan pertumbuhan mikroorganismenya dan waktu lipat dua
- Setelah dijelaskan tentang macam-macam metode pengukuran pertumbuhan, mahasiswa dapat menentukan metode yang tepat dalam pengukuran pertumbuhan suatu kelompok mikroorganismenya.
- Melalui kegiatan praktikum dan diskusi mahasiswa dapat meramalkan pengaruh faktor lingkungan terhadap pertumbuhan mikroorganismenya
- Melalui penugasan membaca, mahasiswa dapat menjelaskan syarat ideal memilih senyawa antimikroba dan faktor-faktor yang mempengaruhi kerjanya

Setelah perkuliahan tentang pokok bahasan ini selesai, mahasiswa dapat :

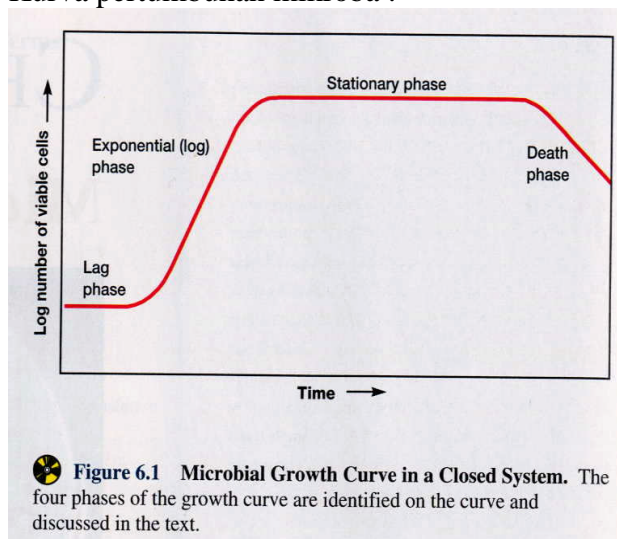
1. menjelaskan fase-fase pada kurva pertumbuhan mikroorganismenya
2. menentukan kecepatan pertumbuhan mikroorganismenya dan waktu lipat dua
3. menentukan metode yang tepat dalam pengukuran pertumbuhan suatu kelompok mikroorganismenya
4. meramalkan pengaruh faktor lingkungan terhadap pertumbuhan mikroorganismenya
5. menjelaskan syarat ideal memilih senyawa antimikroba dan faktor-faktor yang mempengaruhi kerjanya

A. FASE-FASE PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

Ada 4 fase kurva pertumbuhan mikroorganisme, yaitu :

1. Fase lag
2. Fase log
3. Fase stationer
4. Fase kematian

Kurva pertumbuhan mikroba :



FASE LAG/ADAPTASI. Jika mikroba dipindahkan ke dalam suatu medium, mula-mula akan mengalami fase adaptasi untuk menyesuaikan dengan kondisi lingkungan di sekitarnya. Lamanya fase adaptasi ini dipengaruhi oleh beberapa factor, diantaranya:

1. Medium dan lingkungan pertumbuhan

Jika medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrient yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru berbeda dengan sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesa enzim-enzim.

2. Jumlah inokulum

Jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi.

Fase adaptasi mungkin berjalan lambat karena beberapa sebab, misalnya: (1) kultur dipindahkan dari medium yang kaya nutrien ke medium yang kandungan nutriennya terbatas, (2) mutan yang baru dipindahkan dari fase statis ke medium baru dengan komposisi sama seperti sebelumnya.

FASE LOG/PERTUMBUHAN EKSPONENSIAL. Pada fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Pada fase ini kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh medium tempat tumbuhnya seperti

pH dan kandungan nutrient, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara. Pada fase ini mikroba membutuhkan energi lebih banyak dari pada fase lainnya. Pada fase ini kultur paling sensitif terhadap keadaan lingkungan. Akhir fase log, kecepatan pertumbuhan populasi menurun dikarenakan :

- 1 Nutrien di dalam medium sudah berkurang.
- 2 Adanya hasil metabolisme yang mungkin beracun atau dapat menghambat pertumbuhan mikroba.

FASE STATIONER. Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat-zat nutrisi sudah habis. Karena kekurangan zat nutrisi, sel kemungkinan mempunyai komposisi yang berbeda dengan sel yang tumbuh pada fase logaritmik. Pada fase ini sel-sel lebih tahan terhadap keadaan ekstrim seperti panas, dingin, radiasi, dan bahan-bahan kimia.

FASE KEMATIAN. Pada fase ini sebagian populasi mikroba mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yaitu:

- 1 Nutrien di dalam medium sudah habis.
- 2 Energi cadangan di dalam sel habis.

Kecepatan kematian bergantung pada kondisi nutrien, lingkungan, dan jenis mikroba.

B. KECEPATAN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME DAN WAKTU LIPAT DUA

Pengetahuan mengenai kecepatan pertumbuhan bersifat penting dalam menentukan keadaan atau status kultur sebagai kesatuan.

Kecepatan pertumbuhan (μ) :

$$\mu = \frac{2,303(\log n - \log n_0)}{t - t_0}$$

n_0 = jumlah sel / ml awal

n = jumlah sel / ml setelah waktu t

t_0 = waktu awal

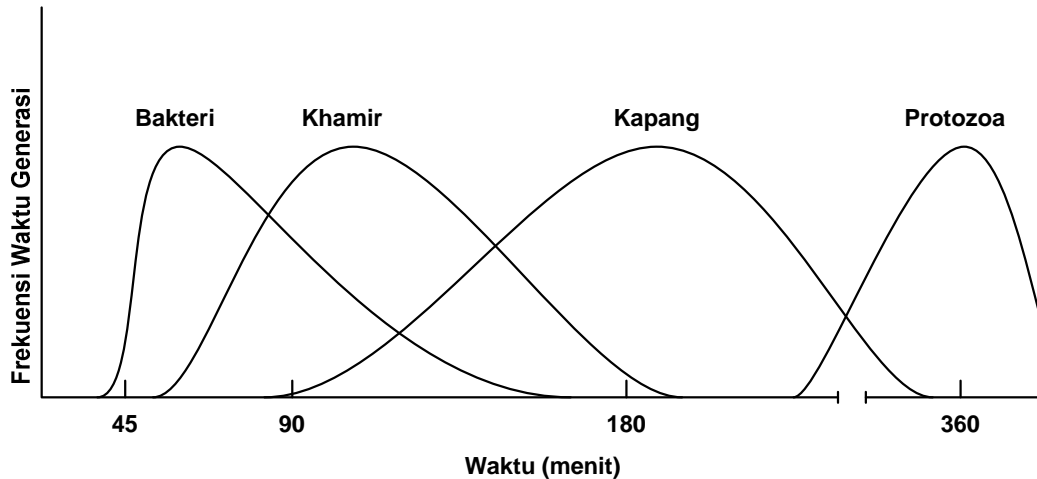
t = waktu akhir

Waktu generasi (tg) :

Waktu yang dibutuhkan oleh suatu kultur untuk memperbanyak jumlah / massa / komponen sel sebanyak 2x lipat, disebut juga waktu lipat dua

$$tg = \frac{0,693}{\mu}$$

Frekuensi waktu generasi untuk berbagai mikroorganisme, dapat dilihat pada gambar di bawah ini .



C. MACAM-MACAM METODE PENGUKURAN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

Metode pengukuran pertumbuhan mikroorganisme dapat dibedakan menjadi **metode langsung dan tidak langsung**. Contoh metode langsung hitungan mikroskopik (menggunakan hemositometer), digunakan untuk mengukur pertumbuhan bakteri pada susu / vaksin dan hitungan cawan digunakan untuk mengukur pertumbuhan bakteri susu, air, makanan, tanah, dan lain-lain. Contoh metode tidak langsung adalah sebagai berikut:

1. Berdasarkan kekeruhan, bila suspensi biakan cair & homogen
2. Berdasarkan berat kering sel, bila suspensi biakan kental & tidak homogen
3. Berdasarkan kadar nitrogen, bila suspensi biakan kental & tidak homogen
4. Berdasarkan aktivitas biokimia, menggunakan uji mikrobiologis

Hitungan mikroskopik menggunakan ruang penghitung hemositometer mempunyai kelebihan cepat dalam pengerjaannya, tetapi mempunyai beberapa kekurangannya, yaitu : tingkat kesalahan tinggi, sel mati bisa terhitung, sel ukuran kecil sulit teramati. Metode ini tidak sesuai untuk sel yang densitasnya rendah.

Hitungan cawan dapat dilakukan dengan metode :

1. Cawan sebar (*spread plate method*)
2. Cawan tuang (*pour plate method*)

Penerapan metode cawan tuang, terlebih dahulu dilakukan :

1. Satu seri pengenceran terhadap sampel
2. Ambil pengenceran tertentu

Metode tidak langsung melalui kekeruhan/turbiditas dengan melihat massa sel. Metode ini menggunakan alat : spektrofotometer. Dengan alat ini dapat ditentukan nilai absorbansi (a) atau kerapatan optik (od=optikal density). Sebelumnya perlu dibuat kurva baku untuk mengetahui jumlah sel. Kelebihan : cepat, mudah, tidak merusak sample. Kekurangan : sel hidup dan sel mati tidak terukur

Metode tidak langsung melalui berat kering sel, dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

1. Menyaring/sentrifugasi massa sel
2. Mencuci dengan aquadest/buffer

3. Dikeringkan dalam oven, bila suhu 80°C memerlukan waktu 24 jam atau 110°C selama 8 jam
4. Kemudian ditimbang sehingga diperoleh berat kering sel.

D. FAKTOR-FAKTOR LINGKUNGAN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

Setiap mikroorganisme mempunyai respons yang berbeda terhadap faktor lingkungan (suhu, pH, O, salinitas, dsb.)

Suhu, tinggi rendahnya suhu mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Bakteri dapat tumbuh dalam rentang suhu minus 5°C sampai 80°C , tetapi bagaimanapun juga setiap species mempunyai rentang suhu yang pendek yang ditentukan oleh sensitifitas sistem enzimnya terhadap panas. Bakteri dapat dikelompokkan berdasarkan pada kisaran suhu pertumbuhannya, yaitu :

1. **Psikrofil** adalah bakteri yang dapat tumbuh pada suhu 0°C sampai 20°C . Suhu optimumnya sekitar 15°C . Karakteristik istimewa dari semua bakteri psikrofil adalah akan tumbuh pada suhu $0 - 5^{\circ}\text{C}$.
2. **Mesofil** adalah bakteri yang dapat tumbuh pada suhu 20°C sampai 45°C . karakteristik istimewa dari semua bakteri mesofil adalah kemampuannya untuk tumbuh pada suhu tubuh (37°C) dan tidak dapat tumbuh pada suhu di atas 45°C . Bakteri mesofil dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu:
 - a. Yang mempunyai suhu pertumbuhan optimum $20 - 30^{\circ}\text{C}$, termasuk tumbuhan saprofit.
 - b. Yang mempunyai suhu pertumbuhan optimum $35 - 40^{\circ}\text{C}$, termasuk organisme yang tumbuh baik pada tubuh inang berdarah panas.
3. **Termofil** adalah bakteri yang dapat tumbuh pada suhu 35°C atau lebih. Bakteri termofil dapat dibedakan menjadi dua kelompok :
 - a. Fakultatif termofil adalah organisme yang dapat tumbuh pada suhu 37°C , dengan suhu pertumbuhan optimum $45 - 60^{\circ}\text{C}$.
 - b. Obligat termofil adalah organisme yang dapat tumbuh pada suhu di atas suhu 50°C , dengan suhu pertumbuhan optimum di atas 60°C .

Perubahan suhu dapat mempengaruhi :

1. Pertumbuhan : miskin, banyak, atau mati
2. Perubahan karakteristik : pembentukan pigmen, misalnya *Serratia marcescens*, pada suhu kamar merah, suhu lebih tinggi atau rendah dari suhu kamar, pigmen merah hilang. Produksi selulosa *Acetobacter xylinum* pada suhu lebih tinggi dari suhu kamar akan menurun.

Derajat keasaman (pH), pengaruh pH terhadap pertumbuhan tidak kalah pentingnya dari pengaruh temperatur. Ada pH minimum, pH optimum, dan pH maksimum. Rentang pH bagi pertumbuhan bakteri antara 4 – 9 dengan pH optimum 6,5 – 7,5. Jamur lebih menyukai pH asam, rentang pH pertumbuhan jamur dari 1 – 9 dan pH optimumnya 4 – 6. Selama pertumbuhan pH dapat berubah, naik atau turun, bergantung kepada komposisi medium yang diuraikan. Bila ingin pH konstan selama pertumbuhan harus diberikan larutan penyangga atau buffer yang sesuai dengan media dan jenis mikroorganisme.

Kebutuhan oksigen, oksigen tidak mutlak diperlukan mikroorganisme karena ada juga kelompok yang tidak memerlukan oksigen bahkan oksigen merupakan racun bagi pertumbuhan. Mikroorganisme terbagi atas empat kelompok berdasarkan kebutuhan akan organisme, yaitu mikroorganisme **aerob** yang memerlukan oksigen

sebagai akseptor elektron dalam proses respirasi. Mikroorganisme **anaerob** adalah mikroorganisme yang tidak memerlukan O₂ karena oksigen akan membentuk H₂O₂ yang bersifat toksik dan menyebabkan kematian. Mikroorganisme anaerob tidak memiliki enzim katalase yang dapat menguraikan H₂O₂ menjadi air dan oksigen. Mikroorganisme **fakultatif anaerob** adalah mikroorganisme yang tetap tumbuh dalam lingkungan kelompok fakultatif anaerob. Mikroorganisme **mikroaerofilik** adalah mikroorganisme yang memerlukan oksigen dalam jumlah terbatas karena jumlah oksigen yang berlebih akan menghambat kerja enzim oksidatif dan menimbulkan kematian.

Salinitas, berdasarkan kebutuhan garam (NaCl) mikroorganisme dapat dikelompokkan menjadi :

1. Non halofil
2. Halotoleran
3. Halofil (NaCl 10-15%)
4. Halofil ekstrim

E. KONTROL TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

Kontrol terhadap pertumbuhan mikroorganisme dapat dilakukan dengan cara membunuh mikroorganisme, atau menghambat pertumbuhannya. Kontrol terhadap pertumbuhan dapat dilakukan secara :

1. Fisik
2. Kimia
3. Biologi

Secara fisik, menggunakan uap air panas dan tekanan tinggi, diperoleh panas lembab, efektif dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi dengan otoklaf memerlukan suhu 121⁰C, tekanan 15 psi/1,5 kg/cm², selama 15 menit. Sterilisasi fisik dapat juga dengan panas kering menggunakan oven 160⁰C, 2 jam. Sterilisasi dengan oven untuk alat-alat gelas dan bahan yang tidak tembus air

Secara kimia, menggunakan senyawa kimia untuk mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme, contoh :

HgCl (0,1%), menyebabkan koagulasi protein

NaOCl

$\text{Cl}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCl} + \text{HOCl}$ (asam hipoklorit, menyebabkan klorinasi protein sel)

$\text{HOCl} \rightarrow \text{HCl} + \text{O}_n$ (daya oksidasi kuat)

Senyawa kimia yang dapat mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme, dapat dibedakan menjadi antiseptik, desinfektan, dan bahan kemoterapeutik/antibiotik. **Antiseptik** : substansi kimia yang digunakan pada jaringan hidup yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisma. **Desinfektan**:substansi kimia yang dapat menghambat pertumbuhan sel vegetatif pada materi yang tidak hidup. **Bahan kemoterapeutik** :substansi kimia yang dapat merusak/menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam jaringan hidup, dihasilkan oleh mikroorganisme.

Secara mekanik, untuk bahan yang mudah rusak karena pemanasan, misalnya vitamin, enzim, serum, antibiotik. Contoh : filtrasi, menggunakan filter

berupa membran dengan tebal tertentu, terbuat dari asbes, diatom, porselen, kaca berpori, selulosa. membran selulosa : diameter pori 0,01-10 μm

Bahan/zat yang tidak dapat dipanaskan pada suhu lebih dari 100 $^{\circ}\text{C}$, dapat dilakukan **pasteurisasi dan tindalisasi**. Pasteurisasi memerlukan pemanasan 63-73 $^{\circ}\text{C}$, digunakan untuk pengawetan air, susu, bir, anggur. Pasteurisasi dapat membunuh mikroorganisme patogen (*Mycobacterium*, *Salmonella*, *Coxiella*) dan beberapa mikroorganisme normal. Pelaksanaan pasteurisasi dapat dilakukan dengan cara :

LTH = *low temperatur holding*, menggunakan suhu 63 $^{\circ}\text{C}$, selama 30 menit

HTST = *high temperatur short time*, menggunakan suhu 72 $^{\circ}\text{C}$, selama 15 detik

Tindalisasi adalah pemanasan dengan suhu 80-100 $^{\circ}\text{C}$, selama 30 menit, 3 hari berturut-turut. Pelaksanaan tindalisasi melalui tahapan sebagai berikut :

1. Tindalisasi 1: sel vegetatif mati, kemudian diinkubasi, spora berkecambah menjadi sel vegetatif.
2. Tindalisasi 2: sel vegetatif mati, spora yang tersisa berkecambah menjadi sel vegetatif.
3. Tindalisasi 3: semua sel mati.

F. SYARAT IDEAL MEMILIH SENYAWA ANTIMIKROBA DAN FAKTOR-FAKTOR YANG MEMPENGARUHI KERJA ANTIMIKROBA

Beberapa hal yang harus diperhatikan dalam memilih bahan kimia sebagai senyawa antimikroba adalah sebagai berikut :

1. Memiliki kemampuan untuk mematikan mikroorganisme dalam konsentrasi rendah pada spectrum luas, sehingga dapat membunuh berbagai mikroorganisme.
2. Bisa larut dalam air atau pelarut lain sampai taraf yang diperlukan secara efektif.
3. Memiliki stabilitas tinggi, jika dibiarkan dalam waktu relatif lama tidak kehilangan sifat antimikrobanya.
4. Bersifat letal bagi mikroorganisme, tetapi aman bagi manusia maupun hewan.
5. Bersifat homogen, sehingga komposisi selalu sama untuk setiap aplikasi dosis takaran.
6. Senyawa tersedia dalam jumlah besar dengan harga yang pantas.
7. Sifat bahan harus serasi.
8. Dapat menentukan tipe mikroorganisme yang akan dibasmi.
9. Aman terhadap lingkungan.

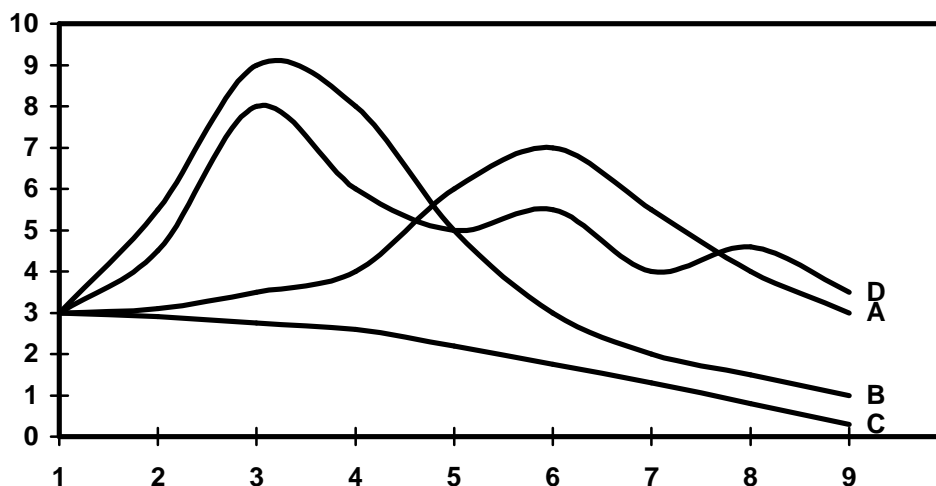
Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja antimikroba adalah sebagai berikut :

1. Konsentrasi bahan, setiap mikroorganisme memerlukan konsentrasi yang berbeda untuk senyawa antimikroba yang sama dalam menghambat atau membunuh.
2. Waktu, setiap mikroorganisme memerlukan waktu yang berbeda-beda ketika dipaparkan terhadap suatu senyawa antimikroba untuk dapat menghambat atau mematikan.
3. pH. Konsentrasi ion hydrogen mempengaruhi peranan bakterisida dengan cara mempengaruhi organisme dan bahan kimia dalam bakterisida tersebut.
4. Temperatur. Pembunuhan bakteri oleh bahan kimia akan meningkat dengan suatu peningkatan temperature.
5. Sifat organisme. Kemampuan suatu bahan tertentu bergantung pada komponen organisme yang diuji dengan bahan tersebut.
6. Usia mikroorganisme. Tingkat kerentanan mikroorganisme sangat ditentukan oleh umur biakan mikroorganisme.

7. Bahan ekstra. Adanya bahan organik seperti serum, darah atau nanah mempengaruhi aktivitas beberapa senyawa antimikroba.

Pertanyaan:

1. Seorang peneliti ingin mengukur aktivitas enzim yang diproduksi *s. Cerevisiae* dengan terlebih dahulu membuat kurva tumbuh species tersebut. Peneliti tersebut mempunyai waktu yang terbatas untuk menyelesaikan eksperimennya. Metode apa yang cocok untuk membuat kurva tumbuhnya?
2. Tim peneliti dari jurdik bio-UPI berhasil mengisolasi jamur *fusarium babinda* dari bagas yang mempunyai aktivitas selulase. Menurut literature aktivitas optimum selulase terjadi pada fase log. Bagaimana cara tim peneliti menentukan fase log? (sebutkan metode yang sesuai!) Faktor-faktor lingkungan apa saja yang harus diperhatikan dalam penelitian tersebut ?
3. Seorang penduduk kampung Sukagalih ingin memeriksa kualitas air minum di rumahnya. Selanjutnya sample tersebut dibawa ke lab mikrobiologi upi untuk dihitung jumlah sel bakteri dan jamur tanpa memperhatikan jenisnya. Jelaskan metode yang cocok dengan permasalahan di atas!
4. Seorang mahasiswa jurdik bio-UPI sedang melakukan penelitian tentang optimasi pertumbuhan *agrobacterium* pada berbagai medium. Mahasiswa tersebut menggunakan spektrofotometer dalam penelitiannya. Menurut saudara metode pengukuran pertumbuhan mana yang cocok dengan kondisi di atas?
5. Jelaskan dan gambarkan fase-fase pada kurva pertumbuhan mikroorganisme?
6. Jelaskan grafik di bawah ini! (kurva a, b, c, dan d)



Tugas baca (ditulis di buku catatan):

1. Klasifikasi mikroorganisme berdasarkan sumber karbon dan energi beserta contoh
2. Syarat-syarat ideal memilih senyawa kimia sebagai antimikroba
3. Faktor-faktor yang mempengaruhi kemampuan kerja antimikroba

Daftar Pustaka

- Black, Jacquelyn G. 2002. *Microbiology*. John Wiley & Sons, Inc.
- Brock. TD. Madiqan. MT. 1991. *Biology of Microorganisms*. Sixth ed. Prentice-HallInternational, Inc.
- Cappuccino, JG. & Sherman, N. 1987. *Microbiology: A Laboratory Manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Case, C.L. & Johnson, T.R. 1984. *Laboratory Experiments in Microbiology*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Fardiaz, S. 1987. *Fisiologi Fermentasi*, PAU IPB.
- Kusnadi, dkk. 2003. *Mikrobiologi (Common Teksbook)*. Biologi FPMIPA UPI, IMSTEP.
- Moat, A.G. & Foster, J.W. 1979. *Microbial Physiology*. John Wiley & Sons
- Nicklin. J.K. Graeme-Cook. T. Paget & R. Killington. 1999. *Instans Notes in Microbiology*. Springer Verlag. Singapore Pte, Ltd.
- Tortora Gerard J. et al. 1992. *Microbiology an Introduction*. Fourth Ed. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc.