



KINETIKA PERTUMBUHAN MIKROBA/KINETIKA ENZIM

By: KUSNADI,MSI.

Karakteristik pertumbuhan mikroba

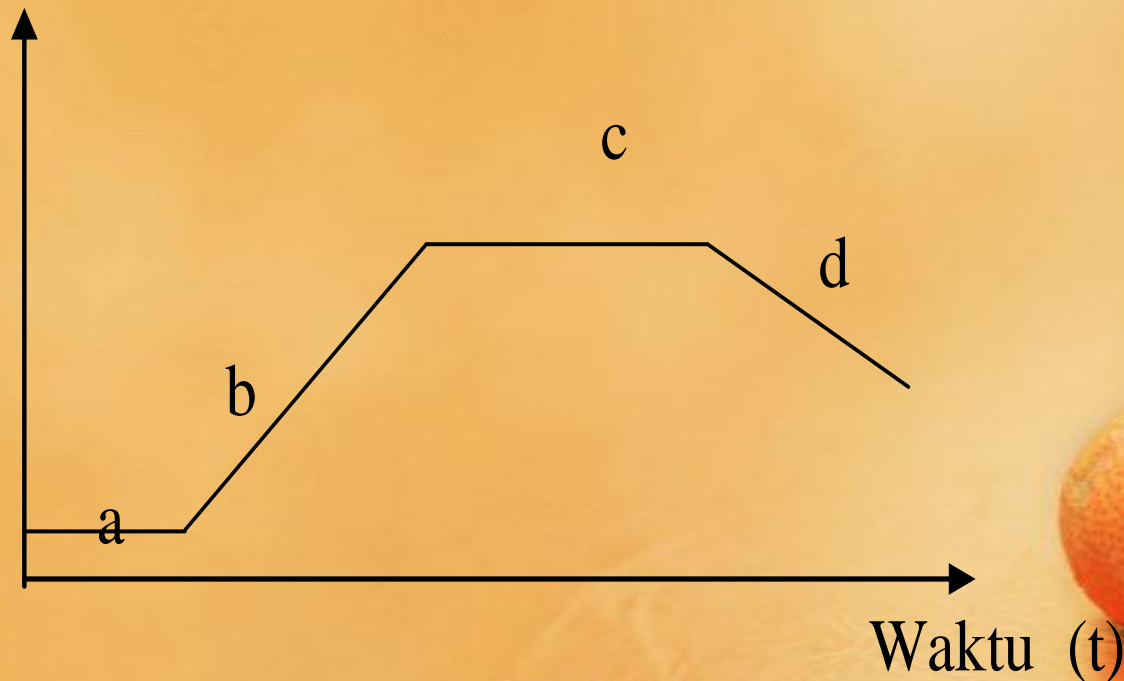
- Pertumbuhan mikroba merupakan pertambahan jumlah sel mikroba
- Pertumbuhan mikroba berlangsung selama nutrisi masih cukup tersedia
- Pertumbuhan mikroba dapat diukur, dengan melihat kenaikan biomassa atau jumlah sel
- Selama pertumbuhan, mikroba menghasilkan metabolit primer/sekunder berupa produk



Kurva Pertumbuhan mikroba

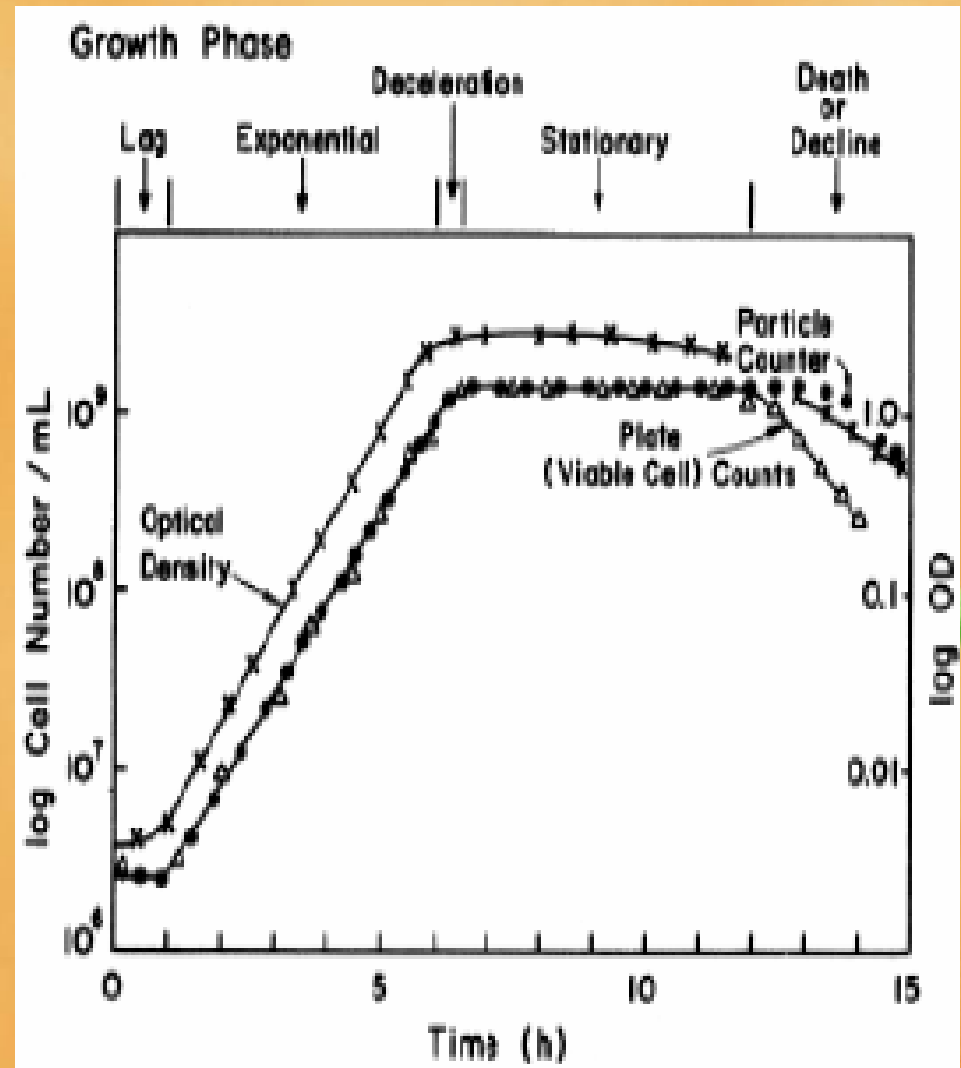
Pertumbuhan sel mikroba biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan sigmoid (model Monod)

Jumlah sel



Microbial Growth Kinetics

- Microbial Growth Kinetics describe how the microbe grows in the fermenter. This information is important to determine optimal batch times. The growth of microbes in a fermenter can be broken down into four stages:
 - Lag Phase
 - Exponential Phase
 - Stationary Phase
 - Death Phase



a. **FASE LAG (Fase Adaptasi)**

- Fase lag merupakan suatu periode penyesuaian terhadap medium----- tidak terjadi perbanyakan jumlah sel

b. **FASE LOG (Fase Eksponensial)**

- Pada fase eksponensial atau logaritmik, sel membelah dengan kecepatan konstan dan terjadi pertambahan jumlah sel menjadi 2 kali lipat (generation time)

c. **FASE STASIONER.**

- Selama fase ini, jumlah sel yang hidup tetap konstan tetapi akhirnya menuju periode penurunan populasi.
- Dihasilkan metabolit sekunder untuk pertahanan diri bakteri

d. **FASE PENURUNAN POPULASI ATAU FASE KEMATIAN**

- Pada saat medium kehabisan nutrisi maka populasi bakteri akan menurun jumlahnya,
- Pada saat ini jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup.



Laju pertumbuhan mikroba dan waktu generasi

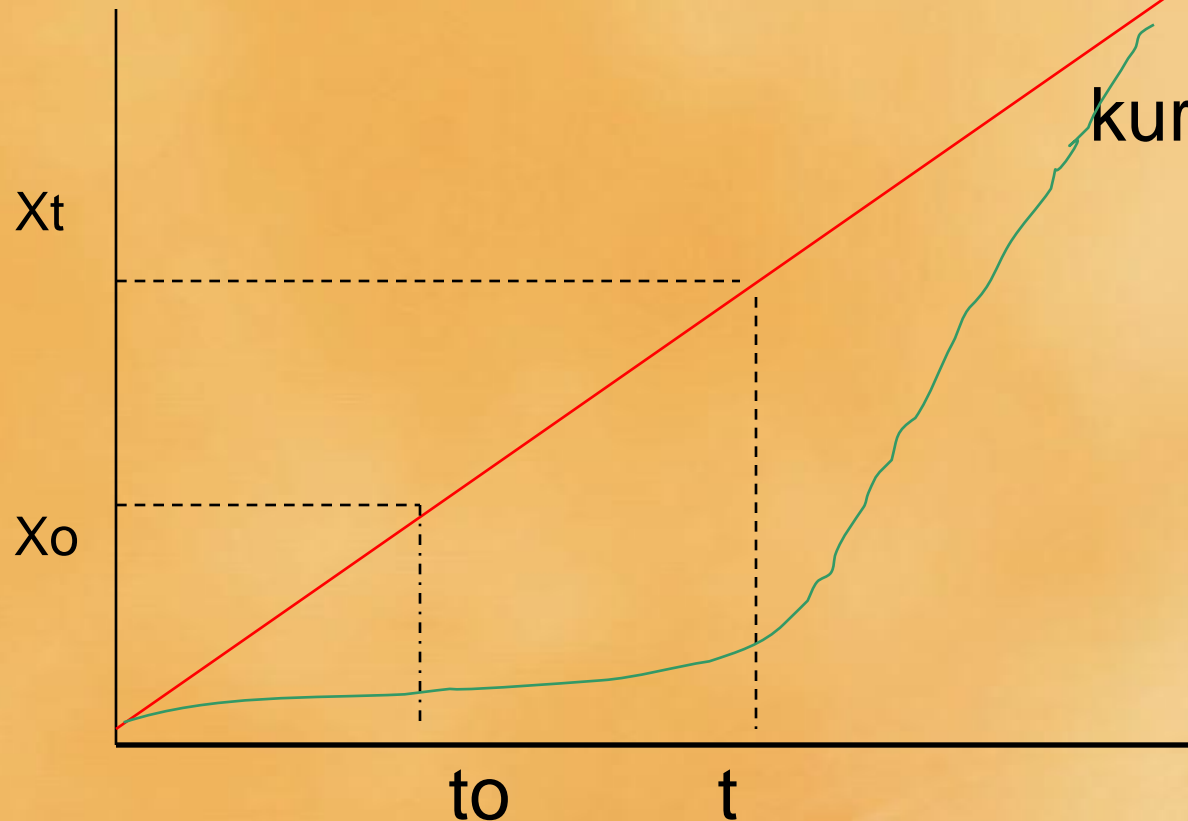
- Jika sejumlah sel mikroba (X_0) dibiakkan dalam waktu (t) pada suatu medium, maka sel akan membelah dan jumlahnya akan bertambah menjadi X_t
- Pertambahan jumlah sel berhubungan dengan laju pertumbuhan serta waktu generasi sel tersebut membelah
- Kurva pertumbuhan tersebut dapat dilukiskan dengan persamaan matematika sebagai berikut:



Grafik pertumbuhan mikroba

jumlah sel

kurva logaritmik



kurva aritmatik



Laju pertumbuhan spesifik

$$X_t = 2^{kt} \times X_o \text{ atau } X_t/X_o = 2^{kt}$$

$$\text{Log}_2 X_t/X_o = \log_2 2^{kt}$$

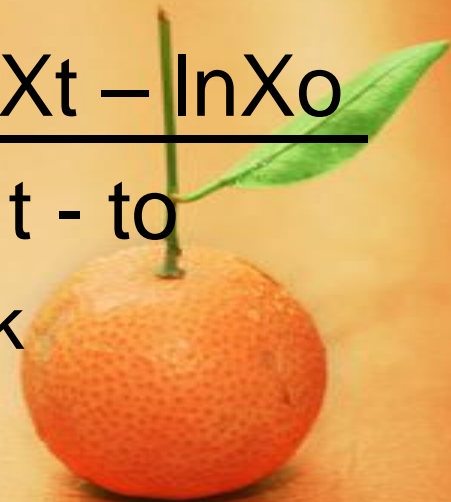
$$\text{Log}_2 X_t/X_o = kt$$

$$1/0,301 \log_{10} X_t/X_o = kt$$

$$1/0,301 (\log X_t - \log X_o) = kt$$

$$k = \frac{\log X_t - \log X_o}{0,301 t} \text{ atau } k = \frac{\ln X_t - \ln X_o}{t - t_o}$$

$$\text{Waktu generasi } t_g = 1/k \text{ atau } t_g = 0,69/k$$



Koefisien konversi atau rendemen produktivitas

$$Y_{x/s} = \frac{X_t - X_o}{S_o - S}$$

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_o}{S_o - S}$$



Waktu generasi dan laju pertumbuhan spesifik berbagai organisme

Organisme	Tg (jam)	k (jam⁻¹)
Bakteri	0,3	2,3
Khamir	1,5	0,46
Kapang	3,0	0,23
Sel tanaman	24	0,0287

[Research Express](#)

Metode mengukur pertumbuhan mikroba

- Metode langsung:
 - Penetapan konsentrasi sel: penghitungan jumlah sel dibawah mikroskop
 - Penetapan bahan kering sel----ditimbang
- Metode tak langsung
 - Metode turbidity (kekeruhan)---optical density
 - Penetapan penyusun sel
 - Analisis persenyawaan (reaksi) biakan



Kinetika Pertumbuhan mikroba

- Merupakan suatu rangkaian reaksi kimia yang mengendalikan sintesis penyusunan biomassa yang diperoleh pada akhir biakan secara menyeluruh yang mengikuti prinsip kekekalan massa



Reaksi kimia pertumbuhan mikroba dalam suatu medium biakan

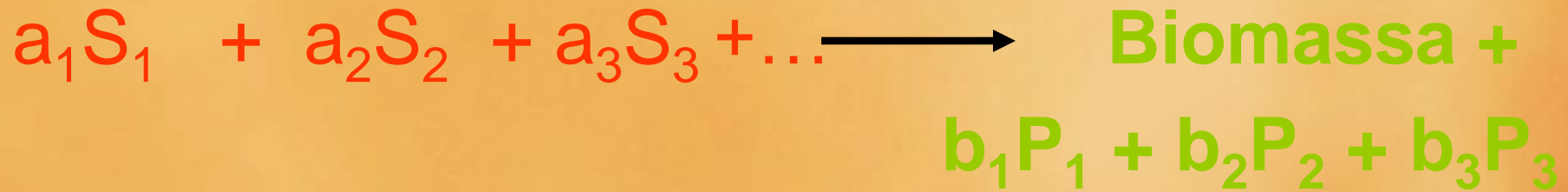
Substrat \longrightarrow mikroba + produk

Sumber: karbon
nitrogen
oksigen
fosfor
belerang
mineral

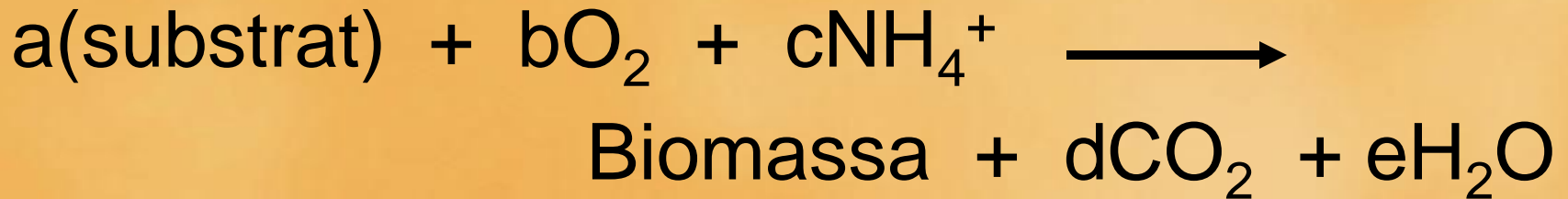
metabolit
CO₂
H₂O
enzim



Kesetimbangan reaksi (Stokiometri) pertumbuhan mikroba



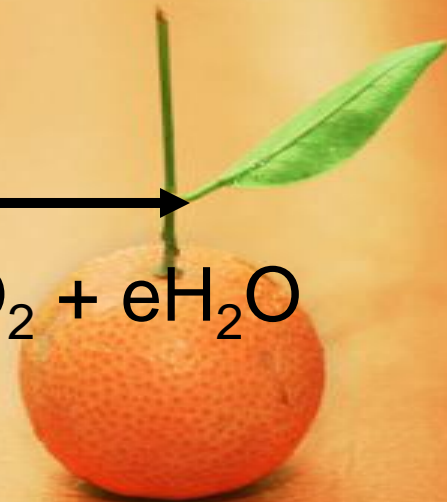
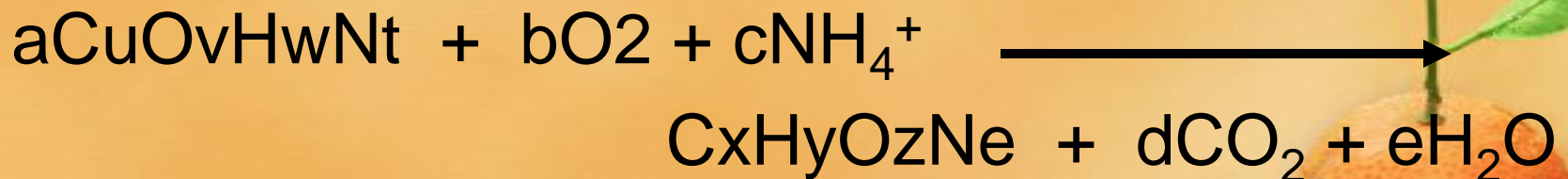
Kesetimbangan kimia pada pertumbuhan aerobik



Komposisi Substrat berkarbon: CuOvHwNt

Biomassa CxHyOzNe

Maka:



Menghitung rendemen (yields)

$$Y_{x/s} = \frac{\text{g biomassa terbentuk}}{\text{g substrat karbon yang digunakan}}$$

Bila M = massa molar biomassa $C_xH_yO_zN_e$

M' = massa molar substrat $C_uO_vH_wN_t$

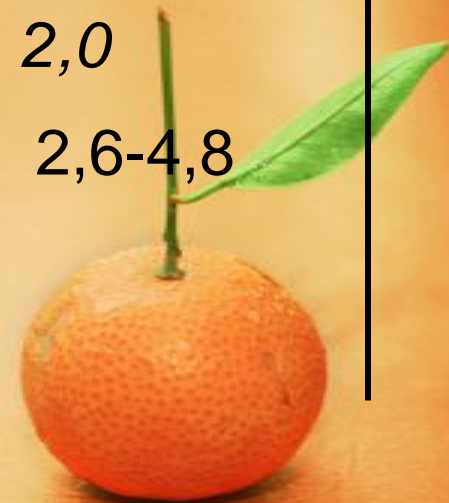
Rendemen dapat dinyatakan sebagai:

$$Y_{x/s} = \frac{M}{aM'}$$



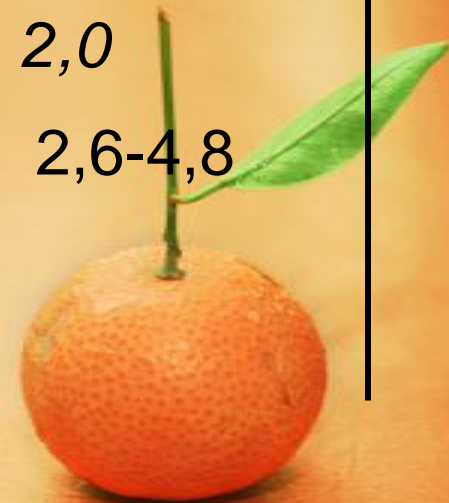
Tabel rendemen biomassa dan keb.oksigen

Substrat	Mikroba	Yx/s	Kebutuhan O2 (gO2/g biomassa kering)
Glukosa	<i>E.coli</i>	0,53	0,4
	<i>C.utilis</i>	0,54	0,6
Methanol	<i>Pseudomonas</i>	0,54	1,2
Ethanol	<i>S.cerevisiae</i>	0,63	2,0
Metana	biakan bakteri campuran	0,62-0,99	2,6-4,8



Tabel rendemen biomassa dan keb.oksigen

Substrat	Mikroba	Yx/s	Kebutuhan O2 (gO2/g biomassa kering)
Glukosa	<i>E.coli</i>	0,53	0,4
	<i>C.utilis</i>	0,54	0,6
Methanol	<i>Pseudomonas</i>	0,54	1,2
Ethanol	<i>S.cerevisiae</i>	0,63	2,0
Metana	biakan bakteri campuran	0,62-0,99	2,6-4,8



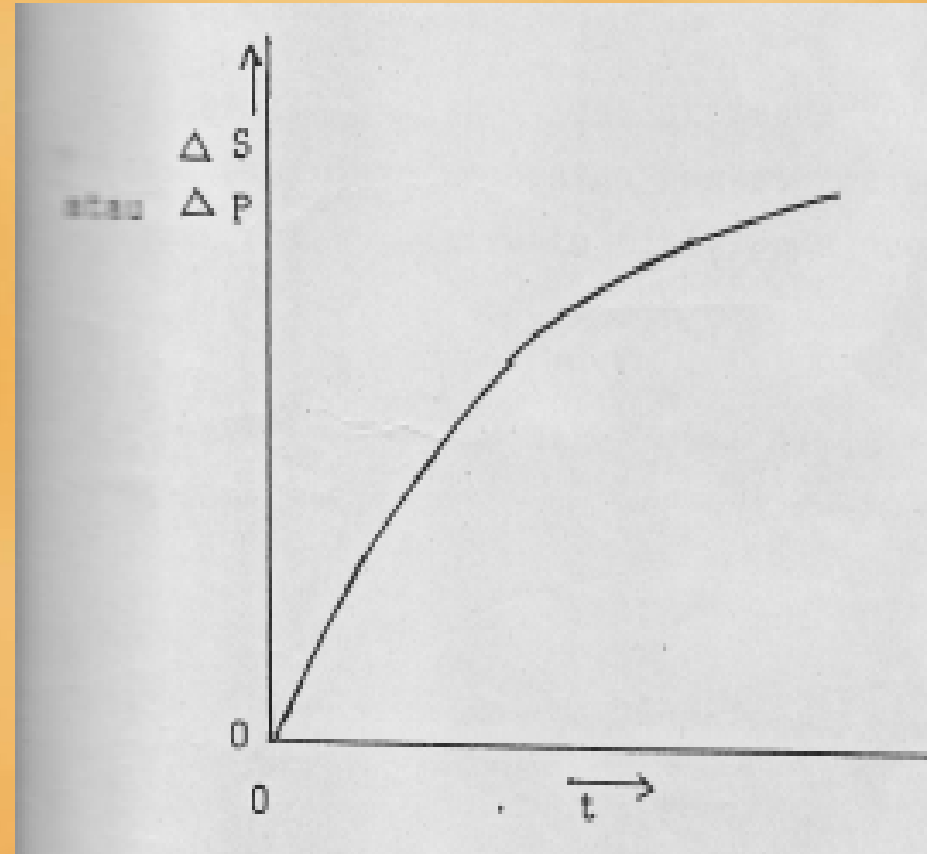
Kinetika Enzim

- Pengukuran jumlah enzim berdasarkan kecepatan reaksi yang dikatalisisnya
- Cara : dibandingkan dengan enzim murni yang diketahui kadarnya. Satuan : μg
- Berdasarkan jumlah substrat yang bereaksi atau produk yang terbentuk per satuan waktu. Satuan : unit
- 1 i.u : Jumlah enzim yang mengkatalisis pembentukan 1 $\mu\text{ mol}$ produk per menit pada kondisi tertentu.



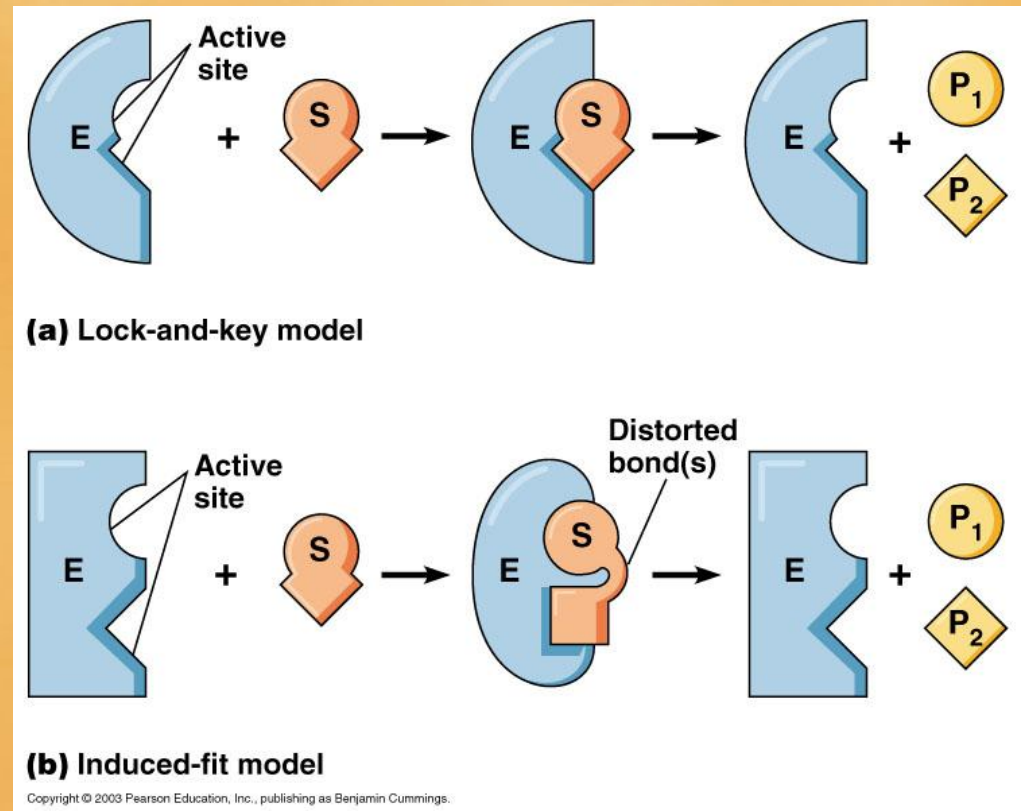
Mengukur Kecepatan Reaksi enzimatis

- Jumlah substrat yg diubah atau produk yang dihasilkan per satuan waktu
- = *progress curve*
- *Grafik berbelok:*
 - *Substrat berkurang*
 - *Product inhibition*



Mekanisme Kerja Enzim

- Perbandingan model “induced fit” dan “kunci dan anak kunci” pada pengikatan substrat oleh enzim



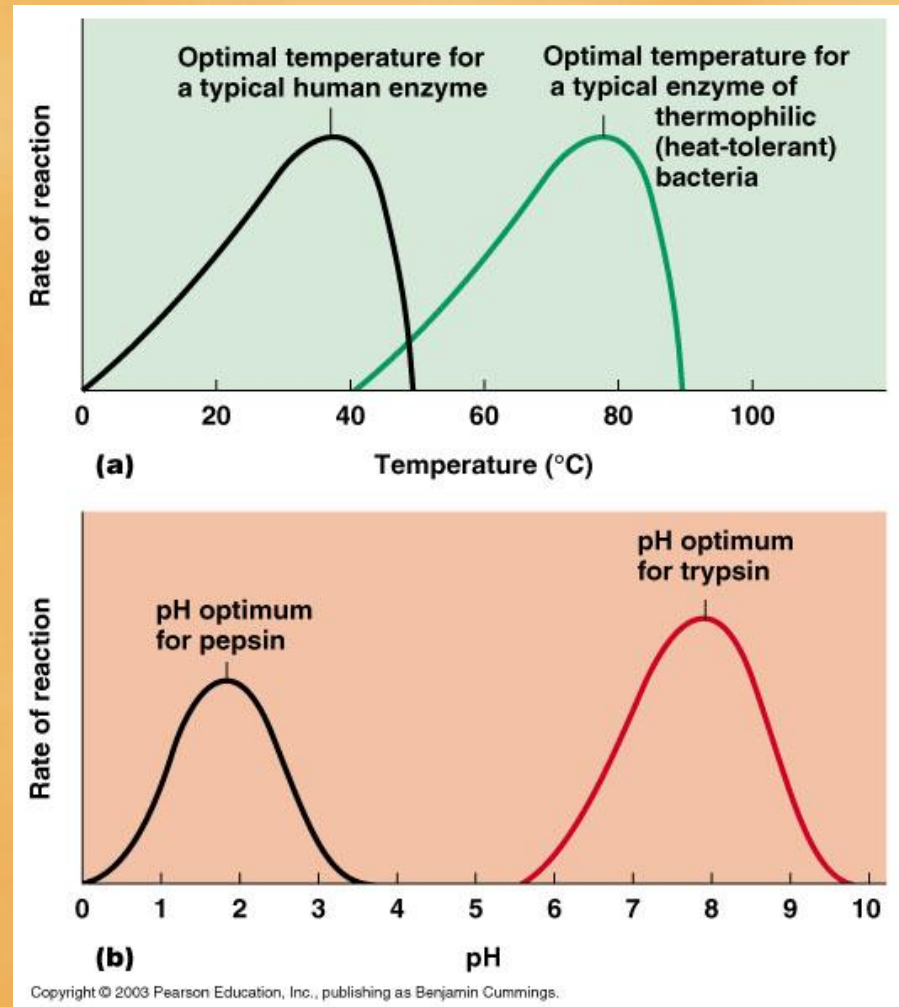
Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Reaksi Enzimatik

- Reaksi enzimatik dipengaruhi oleh:
 - Kadar enzim
 - Kadar substrat
 - pH
 - Suhu
 - Aktivator
 - Inhibitor



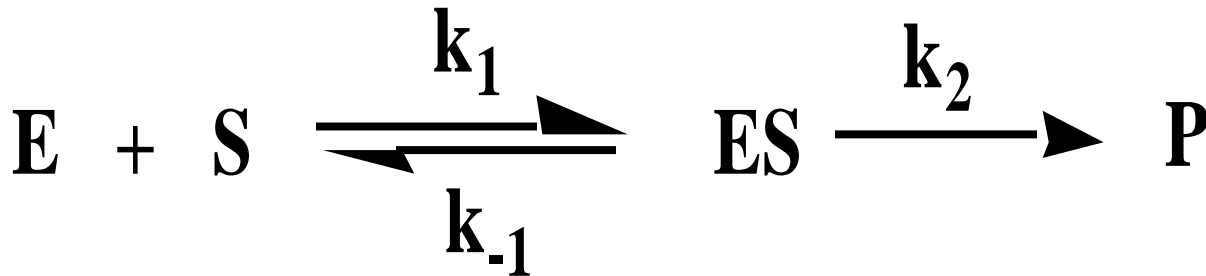
Sifat kerja enzim

- Bagaimana caranya suhu dan pH mempengaruhi kerja enzim?
- Kerja Enzim sangat dipengaruhi oleh faktor temperatur serta pH
- Enzim berkerja baik pada temperatur dan pH optimum



Kinetika Enzim

- Persamaan reaksi kinetika enzim menurut Michaelis-Menten.

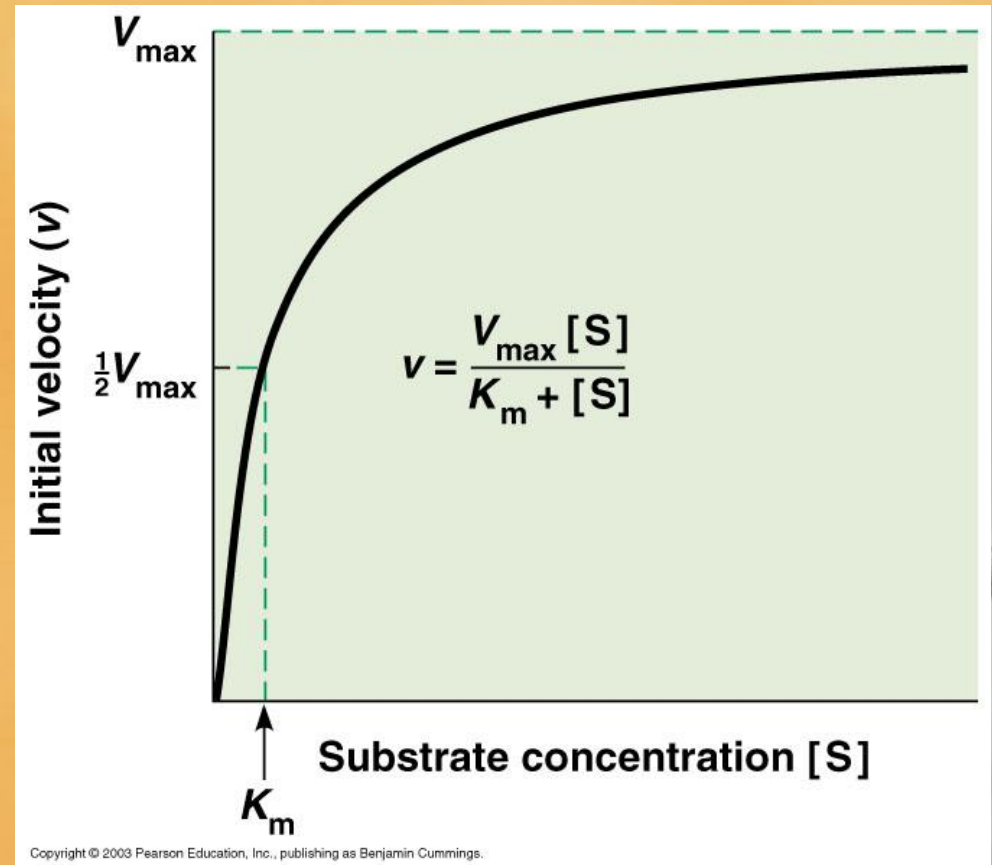


$$\mathbf{V}_{\text{init}} = \frac{\mathbf{V}_{\text{max}} [\mathbf{S}]}{\mathbf{K}_M + [\mathbf{S}]}$$



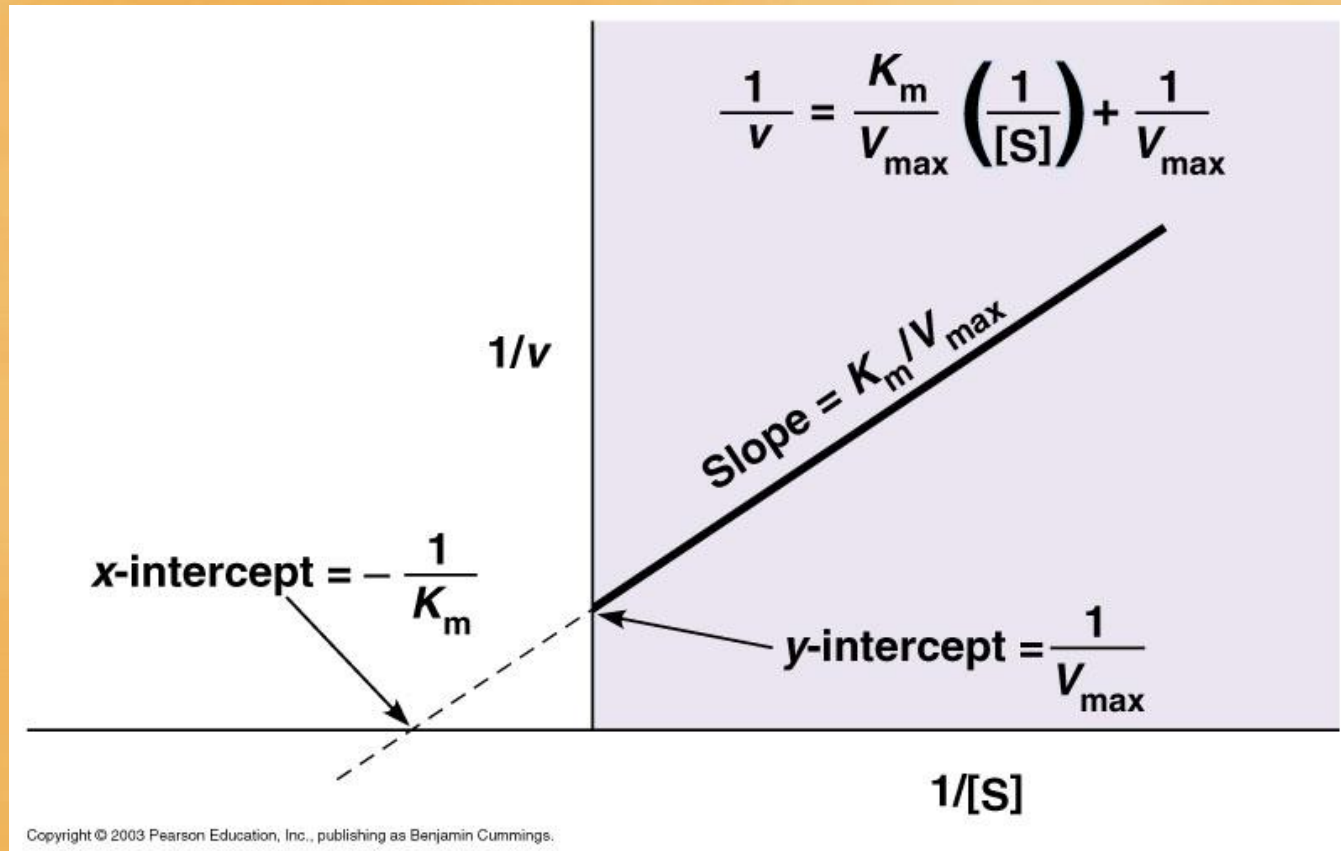
Kinetika Enzim

- Pada suatu jumlah enzim tertentu, hubungan antara kecepatan reaksi kimia suatu bahan/substrat dengan konsentrasi bahan dapat digambarkan dalam persamaan reaksi

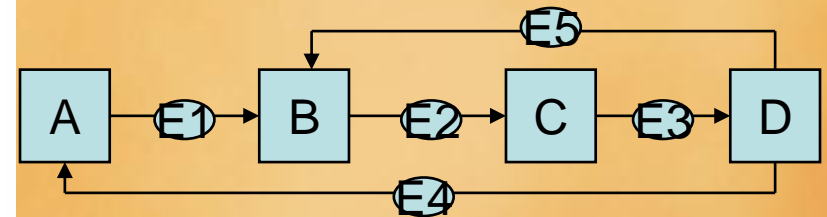
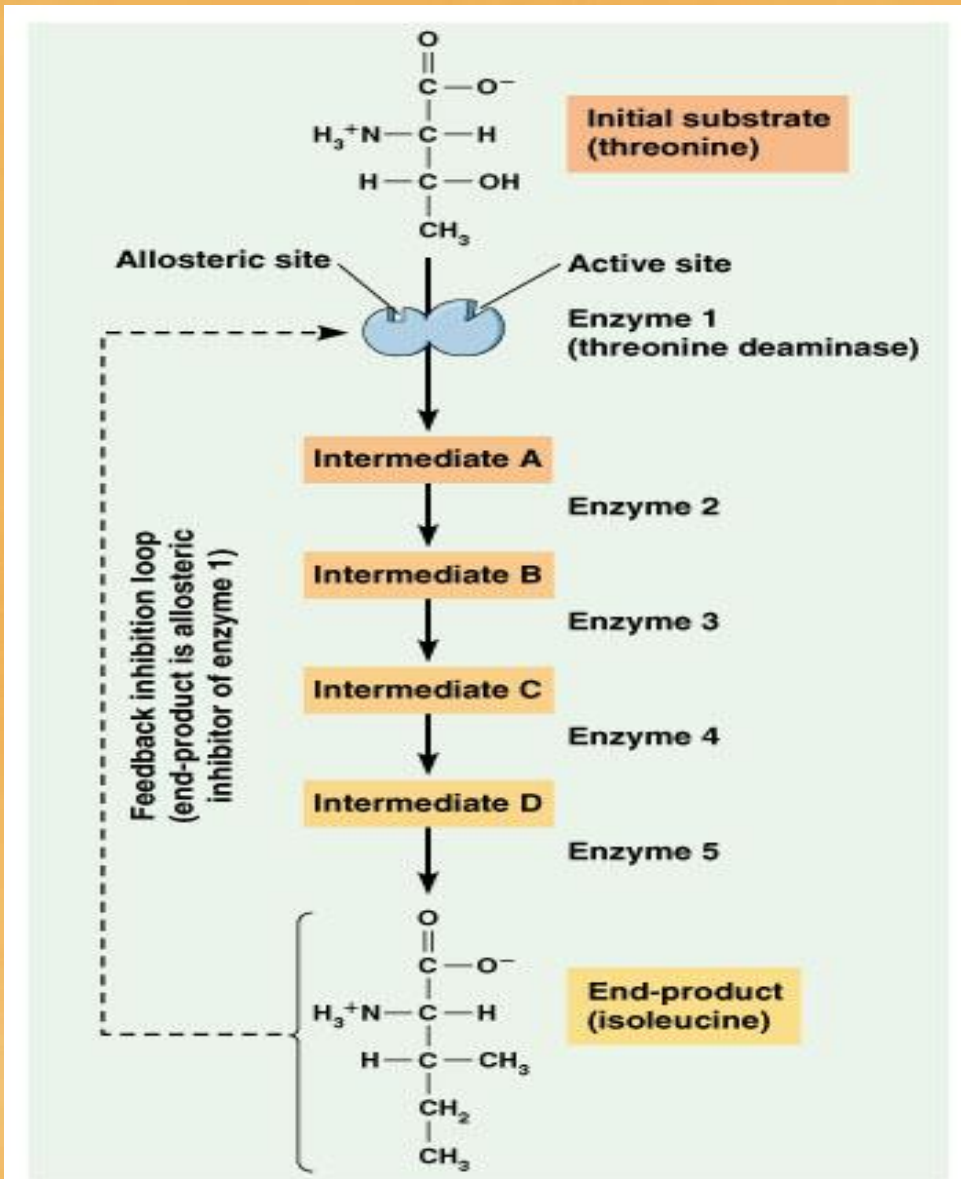


Kinetika Enzim

- Persamaan kinetika enzim dibuat sebagai grafik Lineweaver-Burk

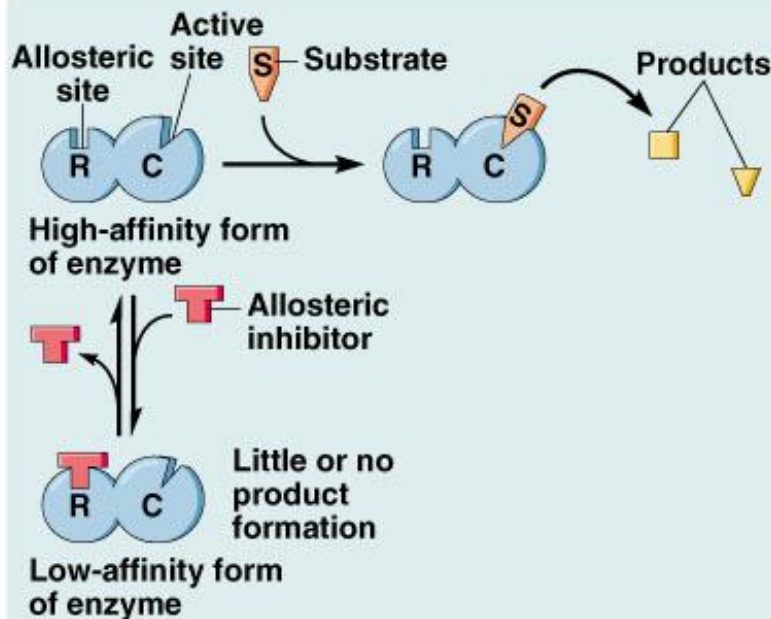


Pengendalian enzim

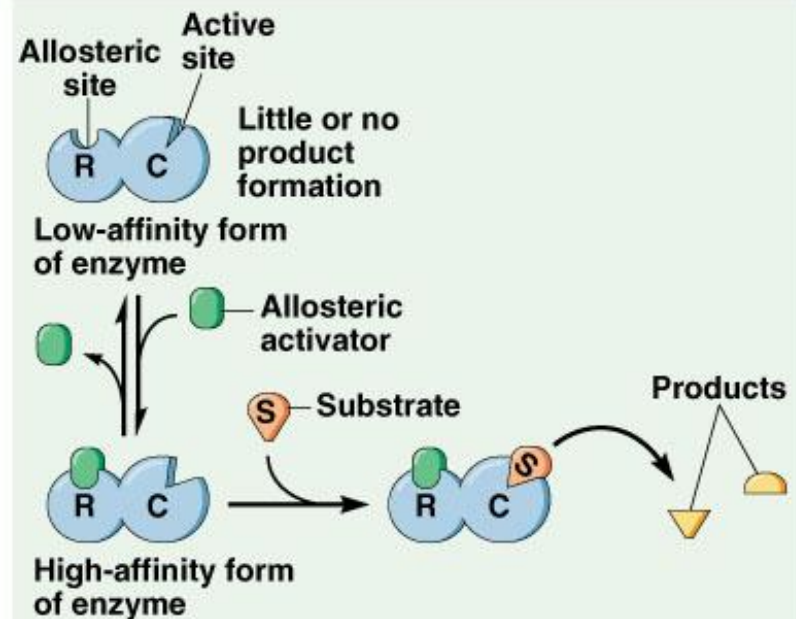


Pengendalian Enzim

- Bagaimana terjadinya pengendalian alosterik?

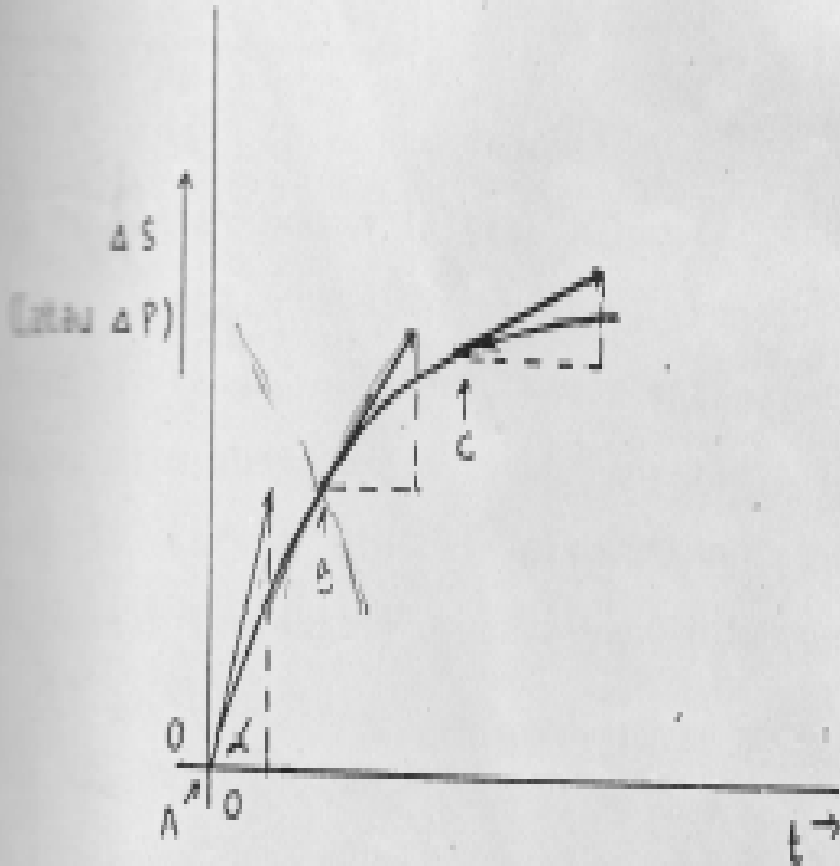


(a) Allosteric inhibition. An enzyme subject to allosteric inhibition is active in the uncomplexed form, which has a high affinity for its substrate (S). Binding of an allosteric inhibitor (red) stabilizes the enzyme in its low-affinity form, resulting in little or no activity.



(b) Allosteric activation. An enzyme subject to allosteric activation is inactive in its uncomplexed form, which has a low affinity for its substrate. Binding of an allosteric activator (green) stabilizes the enzyme in its high-affinity form, resulting in enzyme activity.

Kecepatan sesaat reaksi enzim



- Kecepatan reaksi enzimatis pada suatu waktu yang sangat pendek
- Tangens dari garis singgung terhadap grafik pada suatu titik tertentu

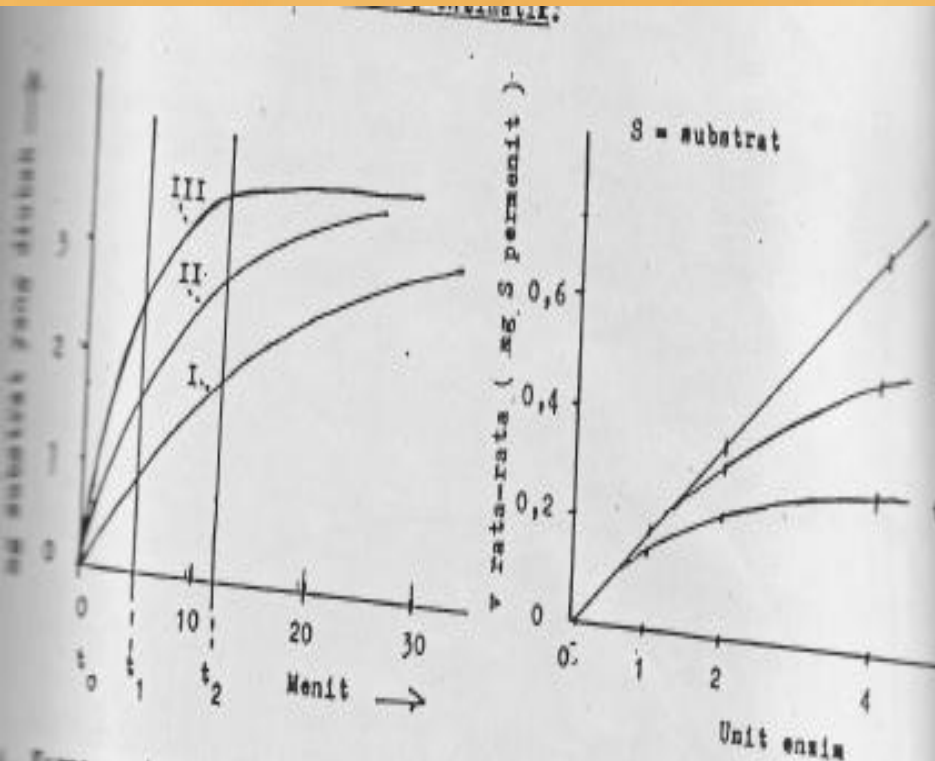


Kecepatan Rata-rata & Kecepatan awal

- $V \text{ rata-rata} = \Delta S / \Delta t$
- V_0 : Kecepatan sesaat pada waktu mendekati nol (grafik masih berupa garis lurus = $\text{tg } \alpha$)



Pengaruh Kadar Enzim Terhadap Reaksi Enzimatis



- Ket A: I (1u), II (2u), III (4u)
- Ket B: pada t_0 grafik linier = V_0 berbanding lurus dengan kadar enzim

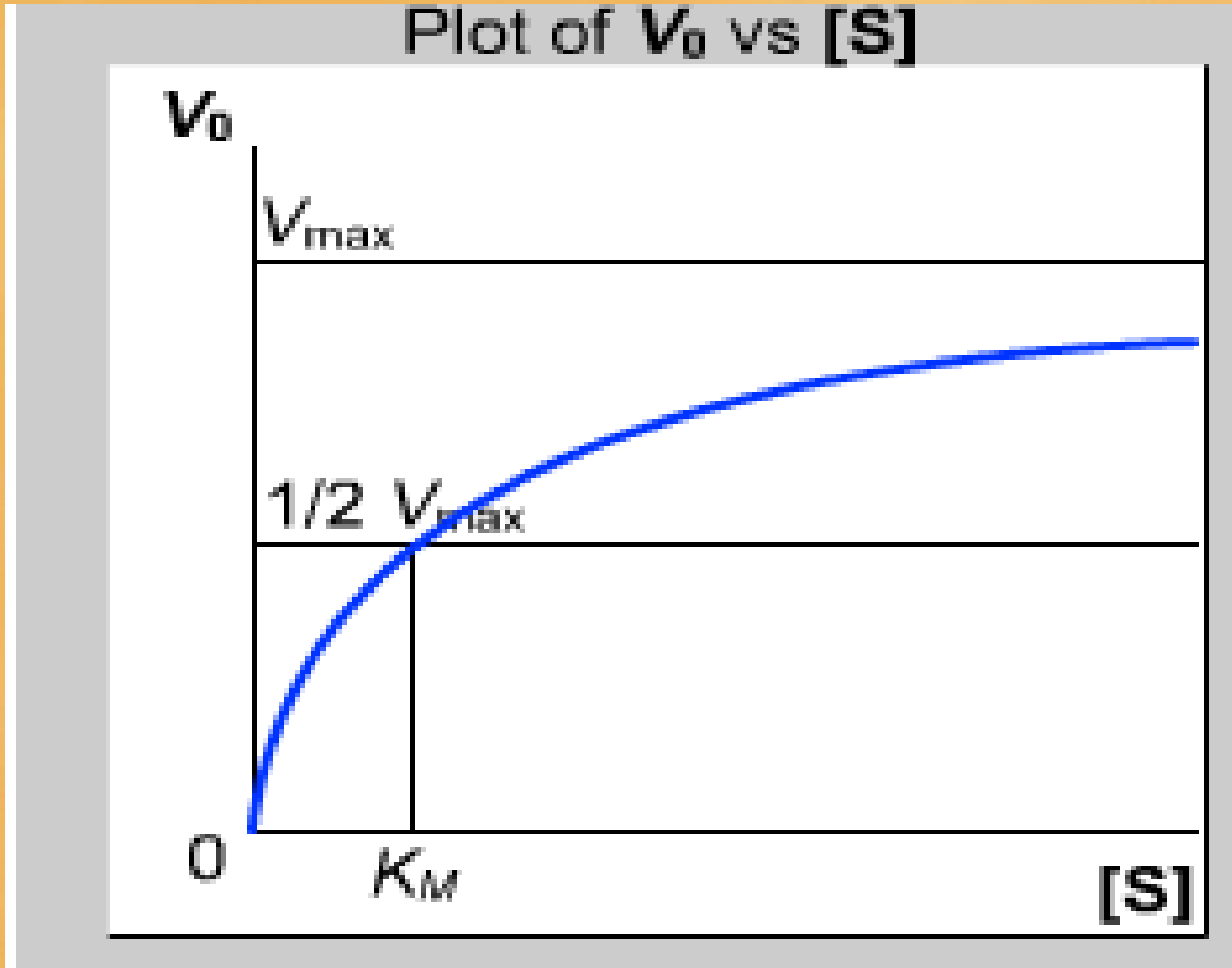


Pengaruh Kadar Substrat Terhadap Reaksi Enzimatik

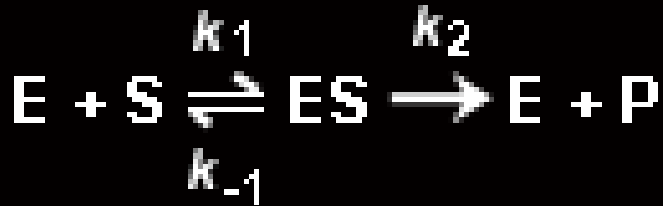
- Kadar substrat dinaikkan V_o makin tinggi
- Pada kadar substrat tertentu didapatkan V_o maximum, sehingga jika kadar substrat dinaikkan V_o tidak berubah
- Kadar substrat yang dibutuhkan agar $V_o = 1/2 V_o \text{ max}$ disebut K_m (konstanta michaelis-menten)



Hubungan antara [S] dan V_0



Persamaan Michaelis-Menten



$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

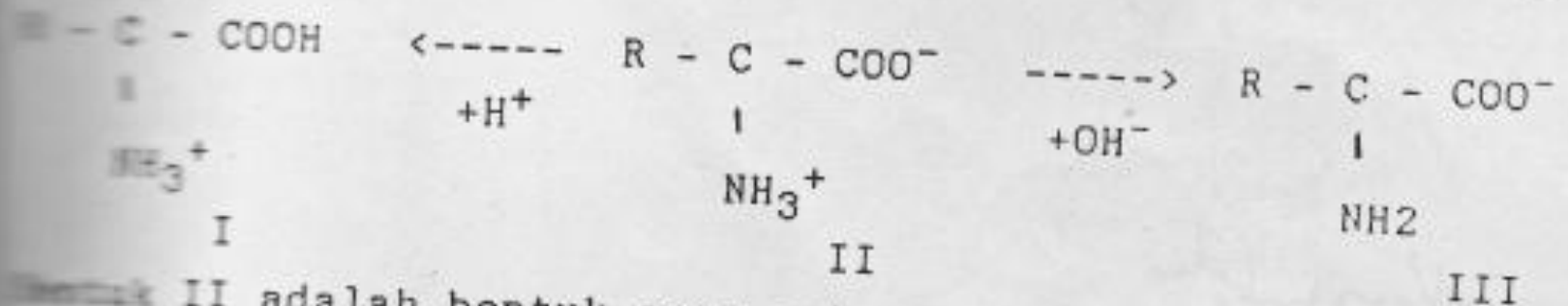
- K_m : affinitas enzim terhadap substrat
- K_m dipengaruhi oleh struktur substrat, suhu dan pH
- Kadar substrat intra sel sekitar harga K_m



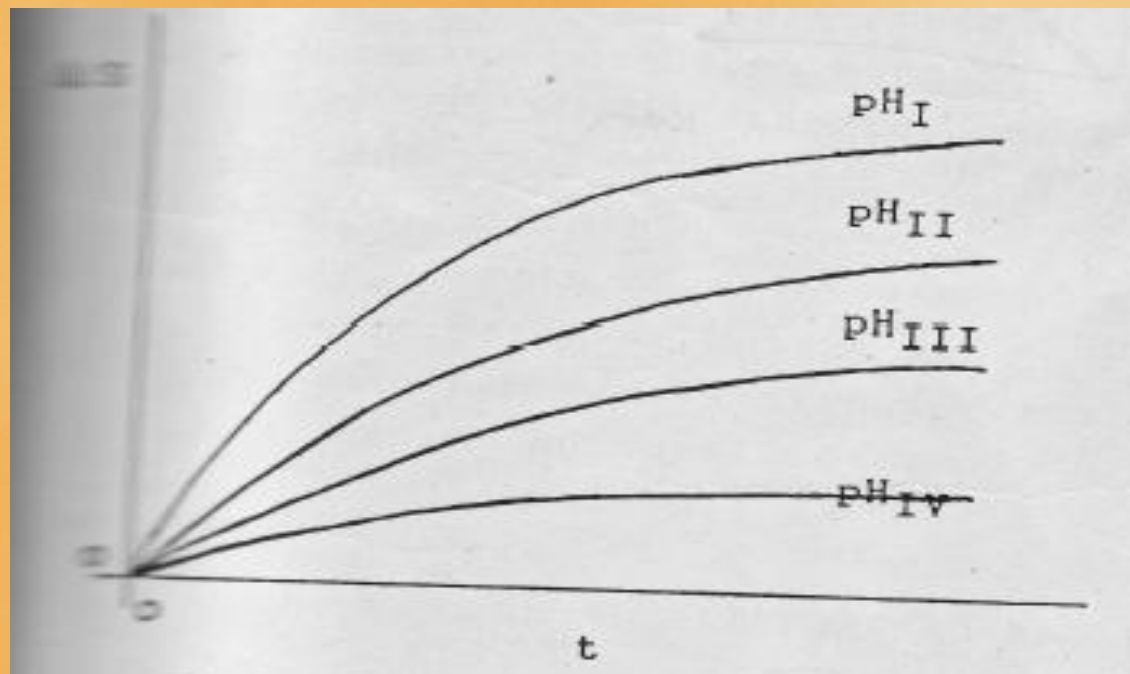
Pengaruh pH pada Reaksi Enzimatik

- Enzim merupakan protrein jadi peka terhadap perubahan pH
- Pada pH yang terlalu tinggi atau terlalu rendah, enzim akan mengalami denaturasi.
- pH optimum : pH dimana $\Delta S/t$ pada tiap-tiap saat selalu lebih besar dibandingkan pada pH yang lain.



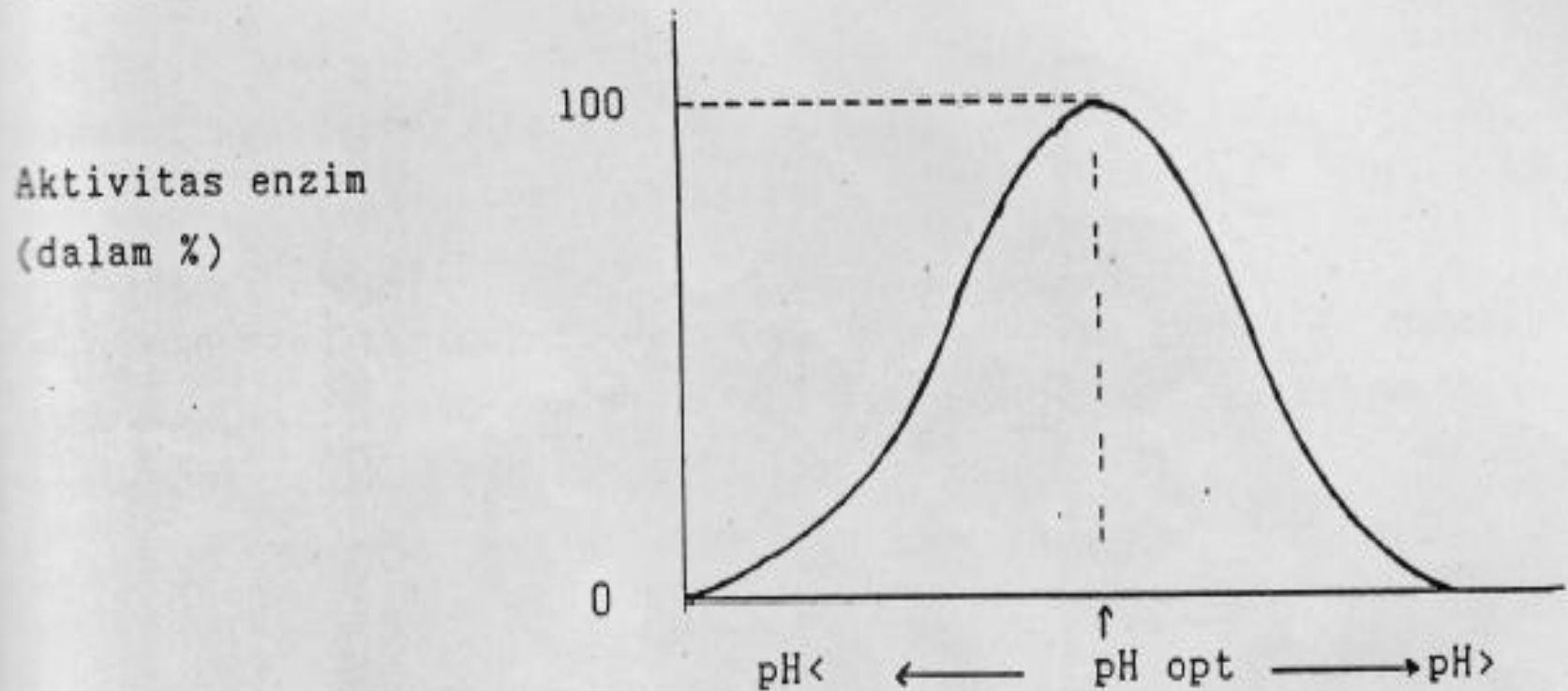


Bentuk II adalah bentuk asam amino pada pH isoelektrik
 Bentuk I pada $\text{pH} < \text{pH isoelektrik}$
 Bentuk III pada $\text{pH} > \text{pH isoelektrik}$



Hubungan pH dengan Aktivitas Enzim

Hubungan antara pH dengan aktivitas enzim dalam %

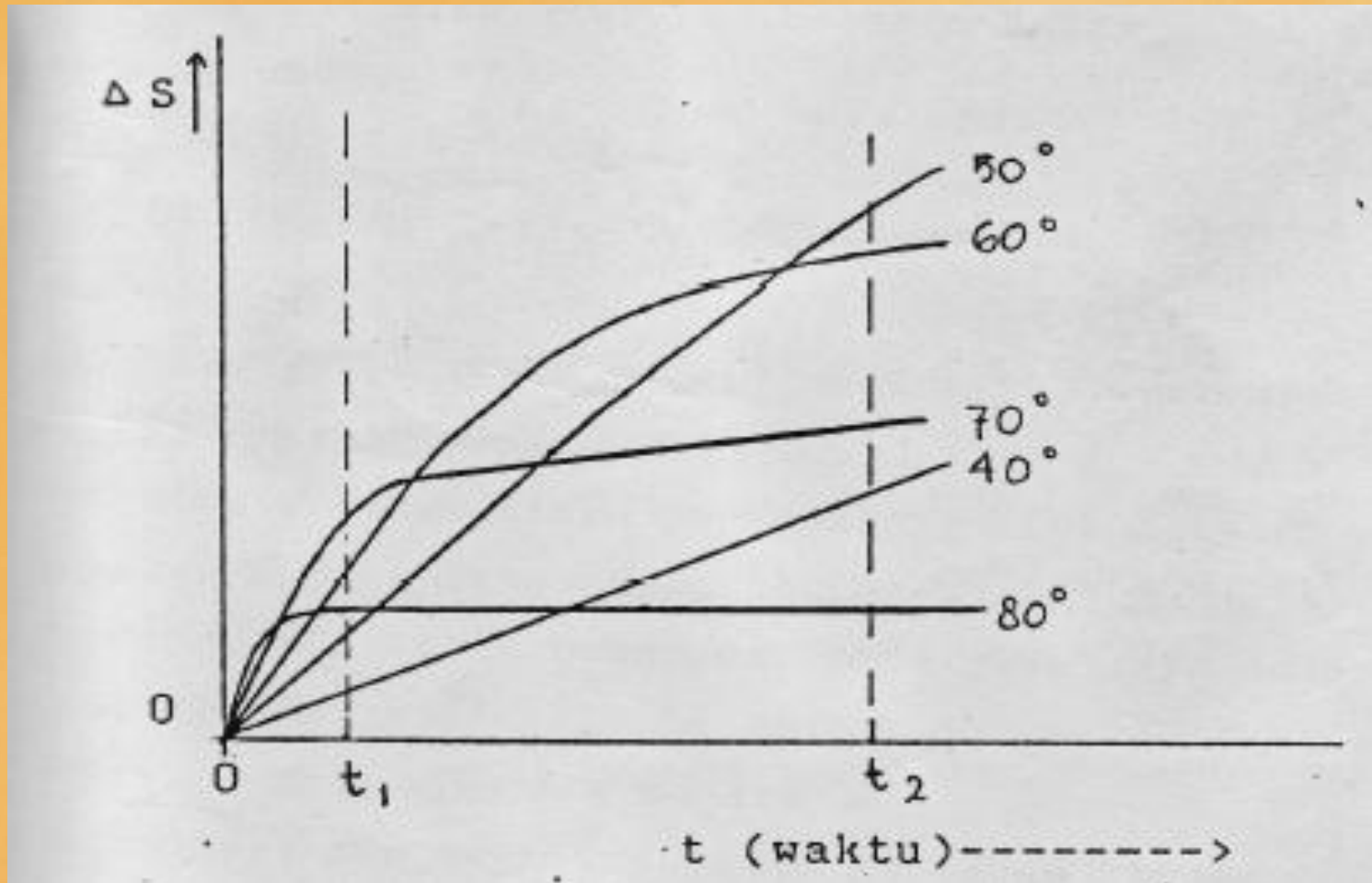


Pengaruh Suhu pada Reaksi Enzimatik

- Pada umumnya reaksi kimia berjalan lebih cepat pada suhu yang lebih tinggi.
- Pada suhu yang tinggi enzim mengalami denaturasi (pada suhu 70°C , sebagian besar enzim menjadi inaktif)
- Pada suhu yang meningkat, kecepatan reaksi juga meningkat (V_0), tetapi denaturasi lebih mudah terjadi.
- Suhu optimum selalu berubah tergantung pada waktu.



Pengaruh Suhu pada Reaksi Enzimatik



Pengaruh Inhibitor Terhadap Reaksi Enzimatik

- Menghambat reraksi enzimatik
- Dapat berikatan dengan enzim
- Klasifikasi inhibitor:
 - Berdasar sifat kinetiknya:
 - Inhibitor kompetitif (hambatannya dapat dikurangi/ditiadakan dg peningkatan kadar substrat)
 - Inhibitor nonkompetitif hambatannya tidak dapat dikurangi/ditiadakan dg peningkatan kadar substrat)
 - Berdasar sifat ikatan enzim-inhibitor:
 - Inhibitor reversibel
 - Inhibitor irreversibel

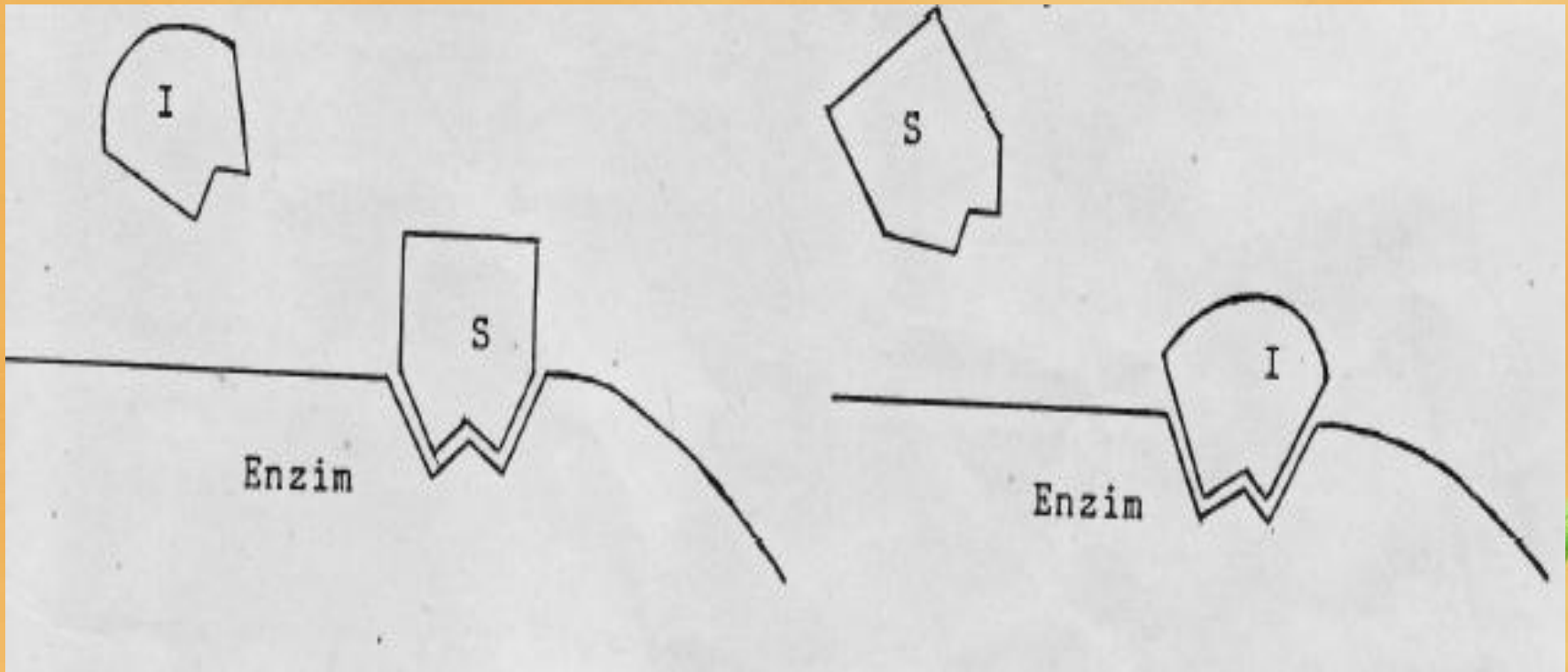


Inhibitor Kompetitif

- Selalu bersifat reversibel
- Inhibitor kompetitif hanya dapat mengikat enzim bebas tetapi tidak dapat mengikat kompleks enzim substrat
- Mekanisme hambatan:
 - Inhibitor analog substrat: inhibitor memiliki struktur yang mirip dengan substrat sehingga dapat terikat pada *active site*.
 - *Steric hindrance inhibitor*: inhibitor tidak terikat pada active site, tetapi dapat menghalangi substrat terikat pada active site karena terjadi halangan sterik.



Inhibitor Kompetitif Analog Substrat

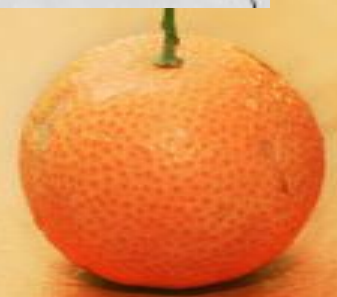
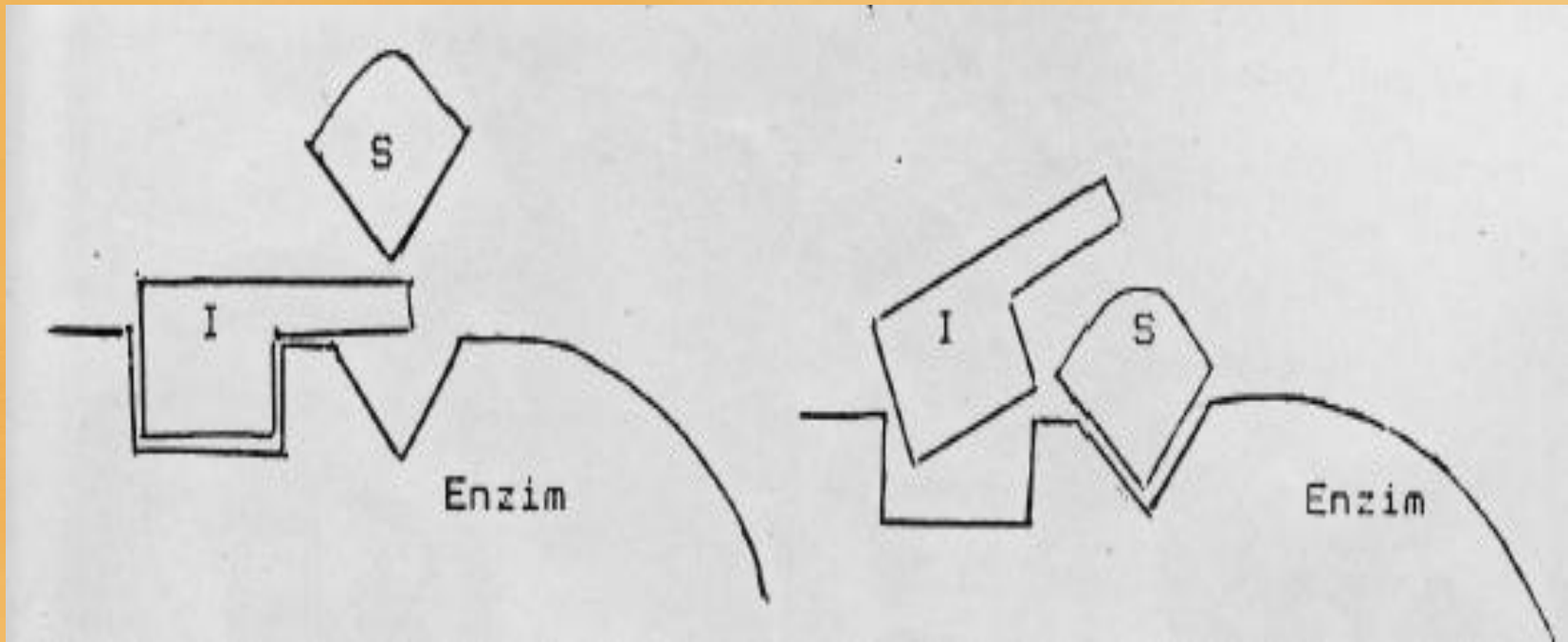


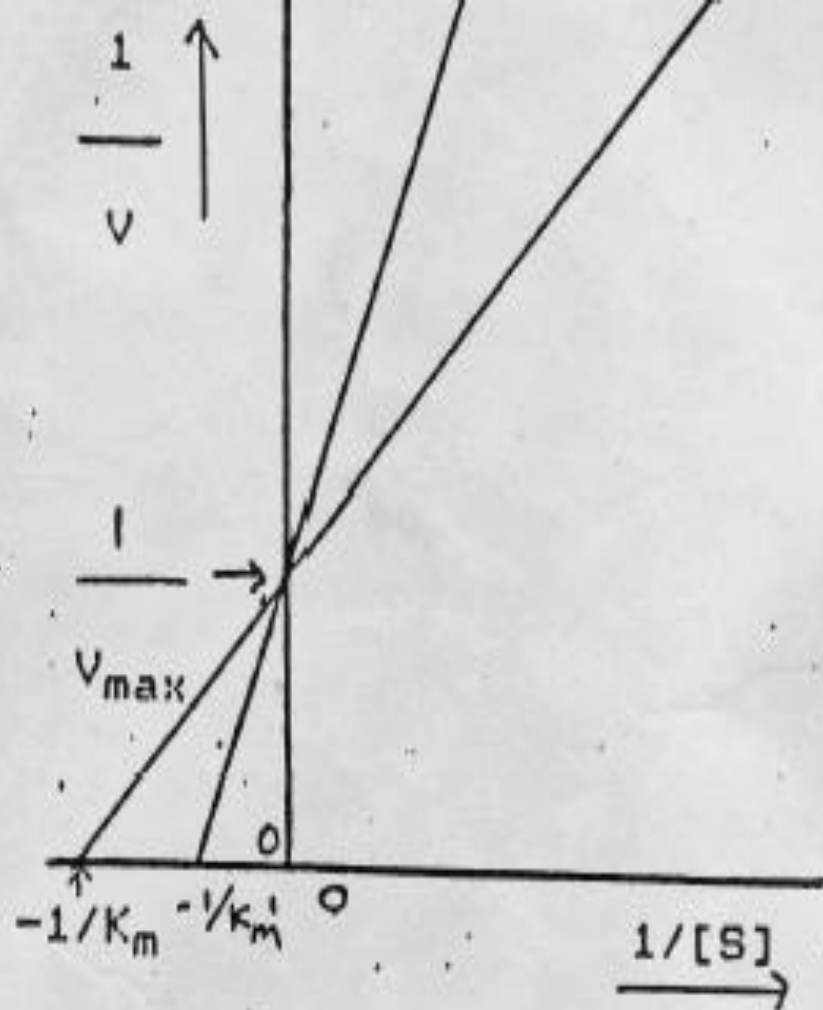
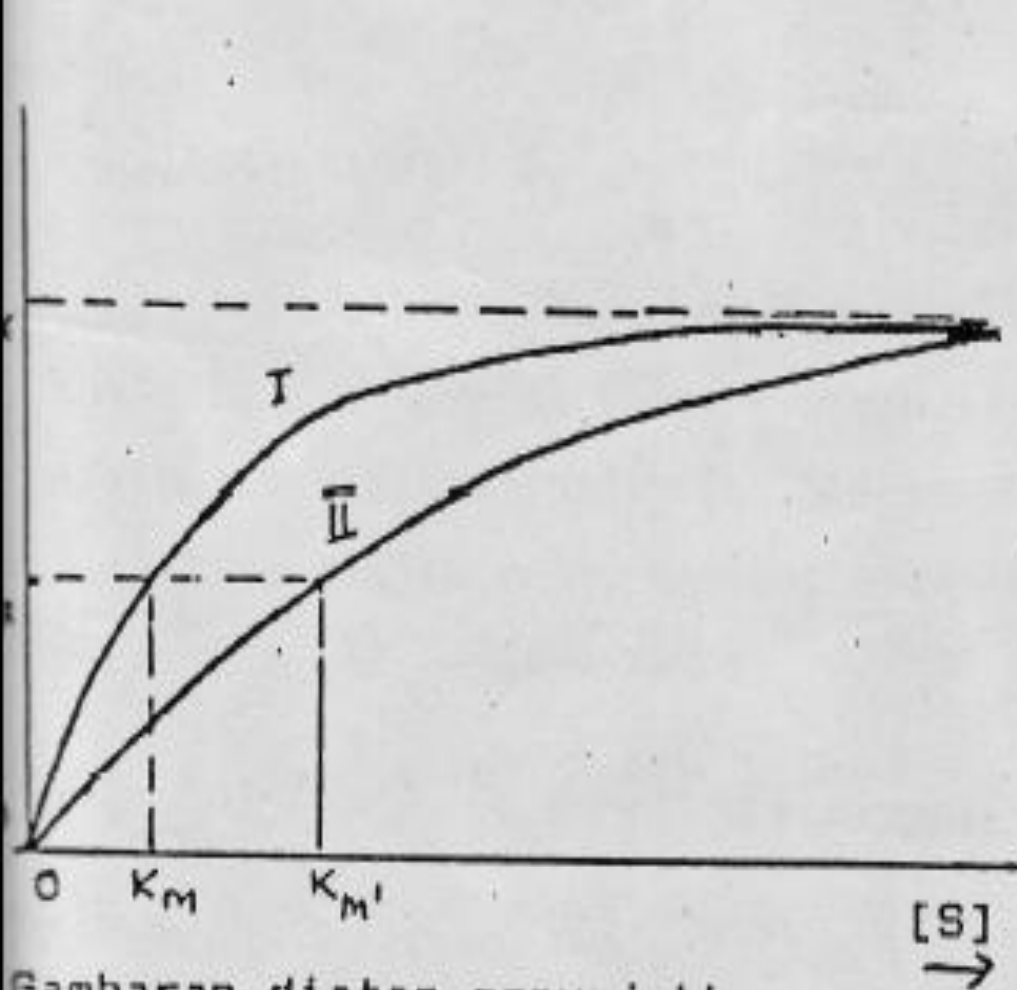
Inhibitor Kompetitif 2

- Contoh :
 - Sulfanilamid (struktur mirip PABA): inhibitor dihidropteroat sintetase
 - Fisosstigmin (mirip asetilkolin) : inhibitor asetilkolinesterase
 - Asetazolamide: inhibitor enzim anhidrase asam karbonat



Inhibitor Kompetitif Steric Hindrance





Gambaran diatas menunjukkan :

- I. tanpa penambahan inhibitor
- II. dengan inhibitor kompetitif

Jadi pengaruh inhibitor kompetitif:

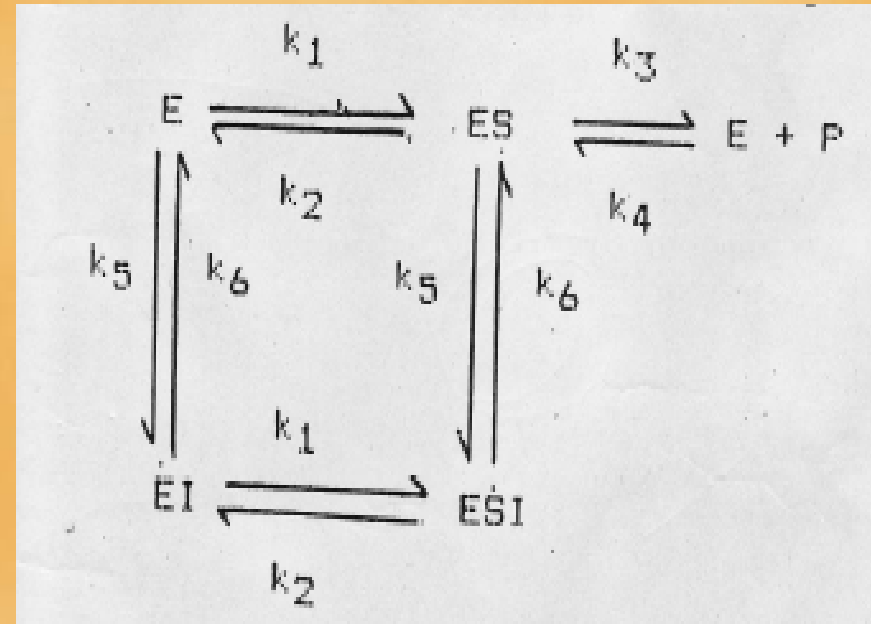
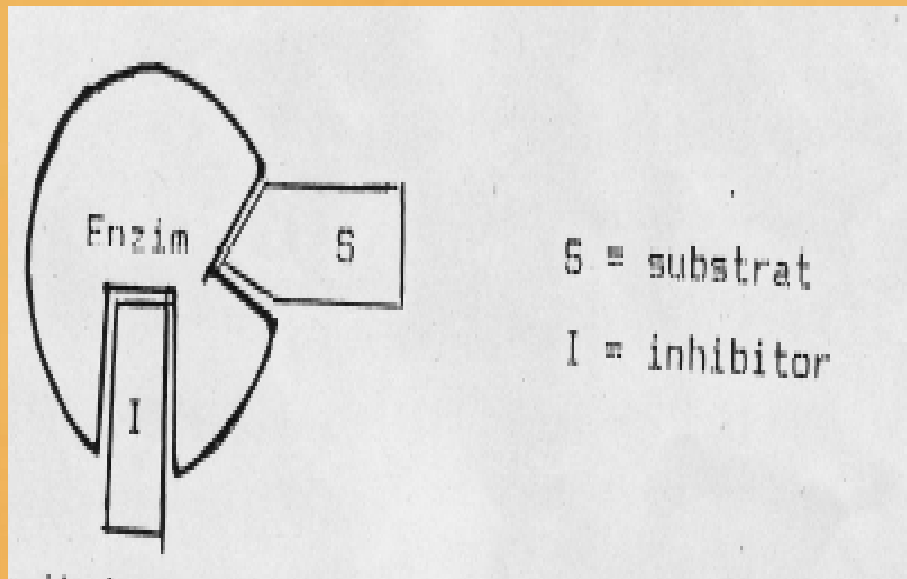
1. menaikkan harga K_m
2. tidak merubah harga V_{max}

Inhibitor nonkompetitif

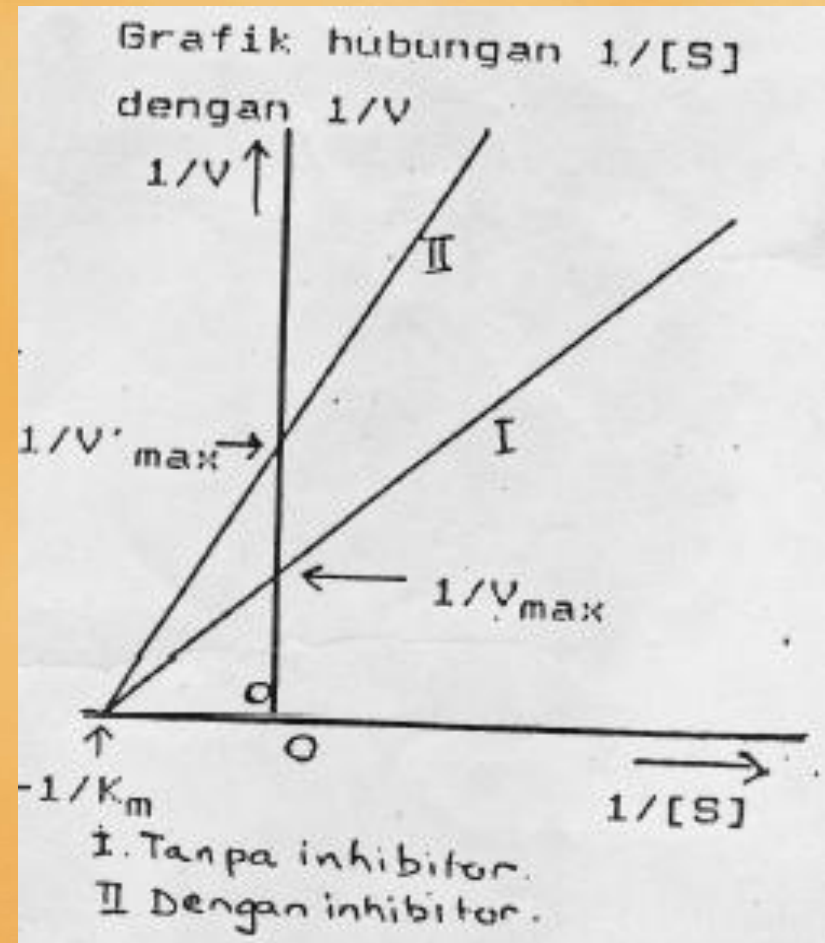
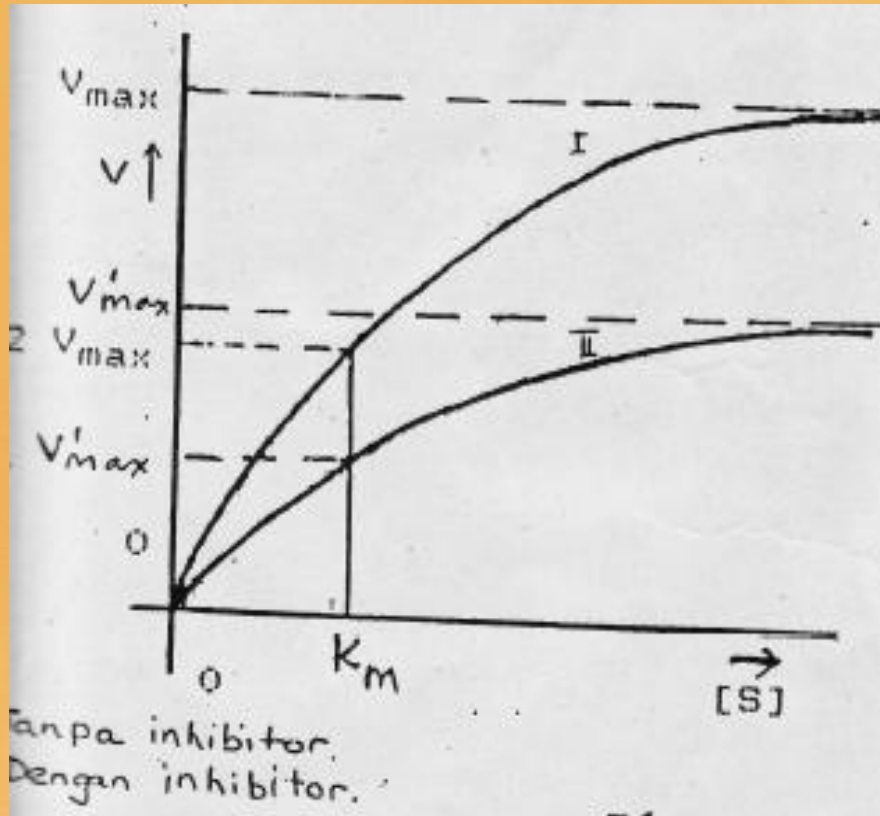
- Inhibitor nonkompetitif reversibel :
 - dapat berikatan dengan enzim bebas maupun kompleks enzim substrat
 - Terikat pada tempat yang berbeda dengan pengikatan substrat
 - “Menurunkan kadar enzim yang aktif”
- Inhibitor nonkompetitif irreversibel
 - Berikatan dengan enzim secara irreversibel
 - Merubah konformasi enzim atau active site, sehingga enzim menjadi inaktif
 - Contoh: Hg^{2+} , Ag^{2+} , Ba^{2+}



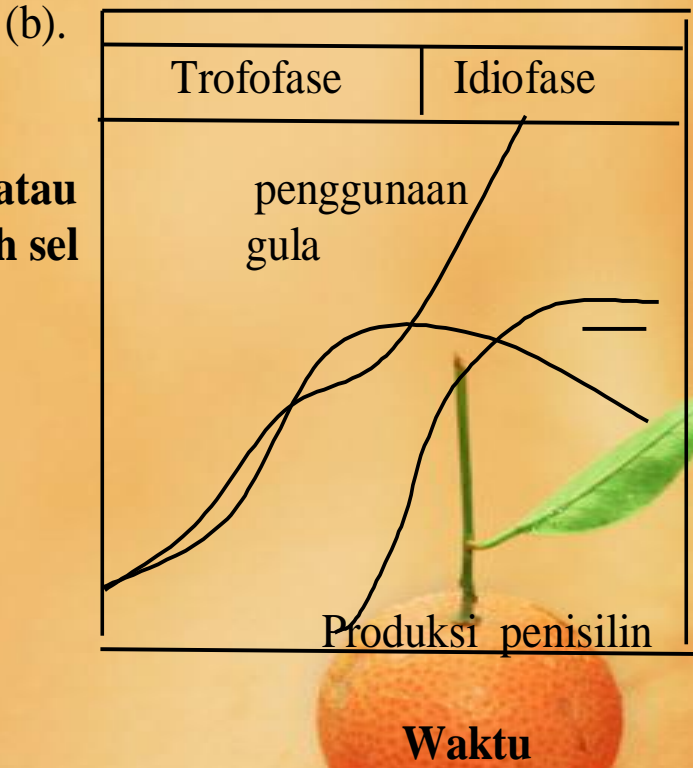
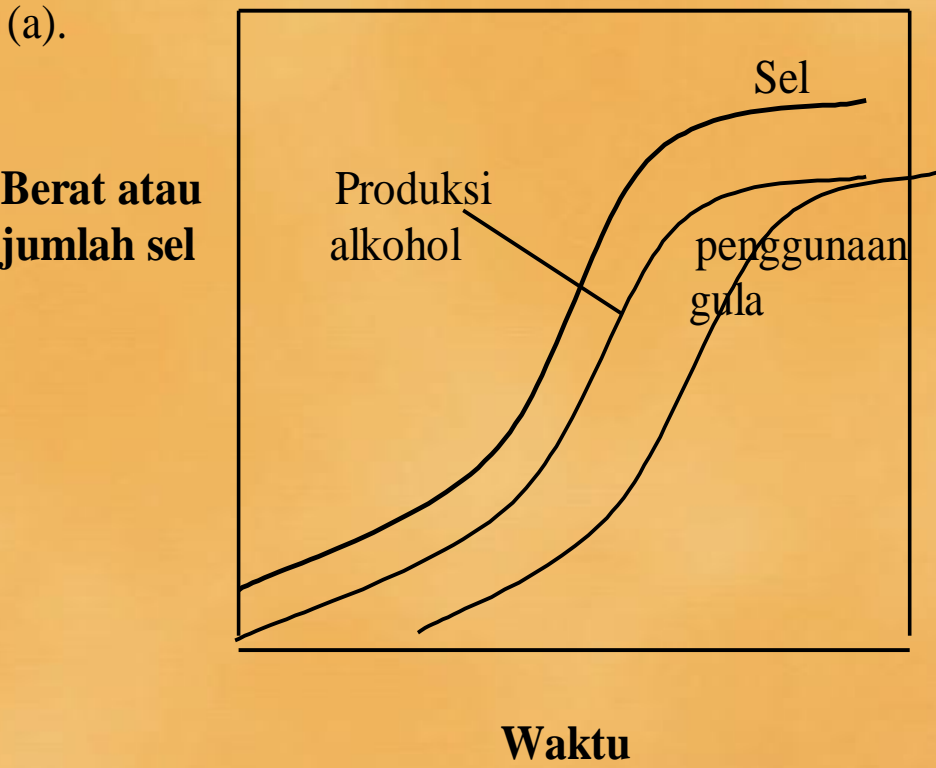
Inhibitor Nonkompetitif Reversibel

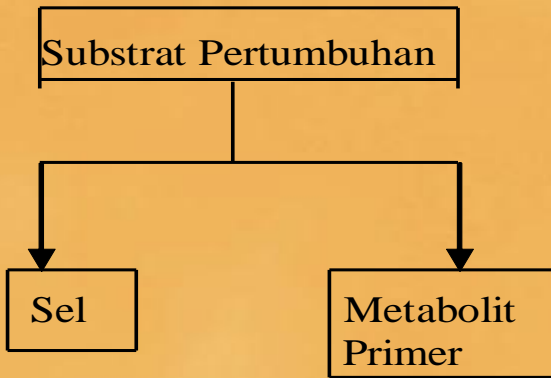


Inhibitor Nonkompetitif Reversibel

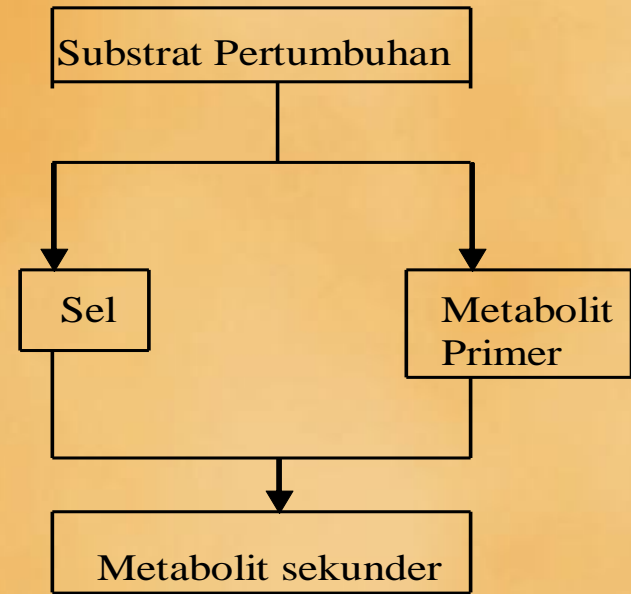


Perbandingan produk metabolit primer dan sekunder

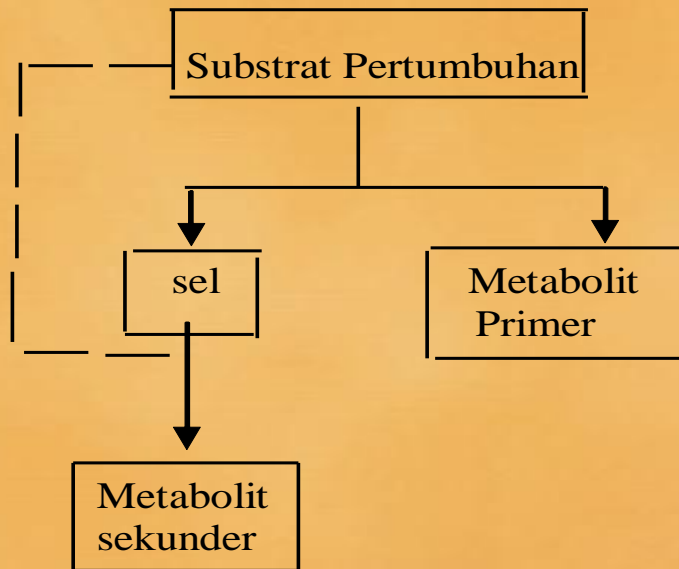




Sel dan metabolit dihasilkan
Kurang atau lebih simultan



Setelah sel dan metabolit primer
dihasilkan, sel merubah metabolit
primer menjadi sekunder.




Setelah sel dihasilkan, selanjutnya substrat
pertumbuhan dirubah menjadi metabolit
sekunder



Latihan soal

- Suatu penelitian mengenai produksi etanol oleh bakteri *Zymomonas mobilis* pada biakan curah diperoleh hasil sebagai berikut:

Waktu (jam)	Biomassa (g/l)	Glukosa (g/l)	Etanol (g/l)
5	0,05	247	1.5
9	0,15	240	5
14	0,45	225	12
18	1,20	195	22
22	2,80	130	47
24	3,40	100	63
26	3,80	75	74
30	4,15	40	90
35	4,20	25	100



Tentukanlah !

- a. Laju pertumbuhan spesifik
- b. Rendemen biomassa
- c. Rendemen hasil (etanol yang dihasilkan)

