

Metode dan prinsip-prinsip laboratorium mikrobiologi



BAHASAN:
Isolasi dan pembiakan mikroorganismen

TUJUAN:

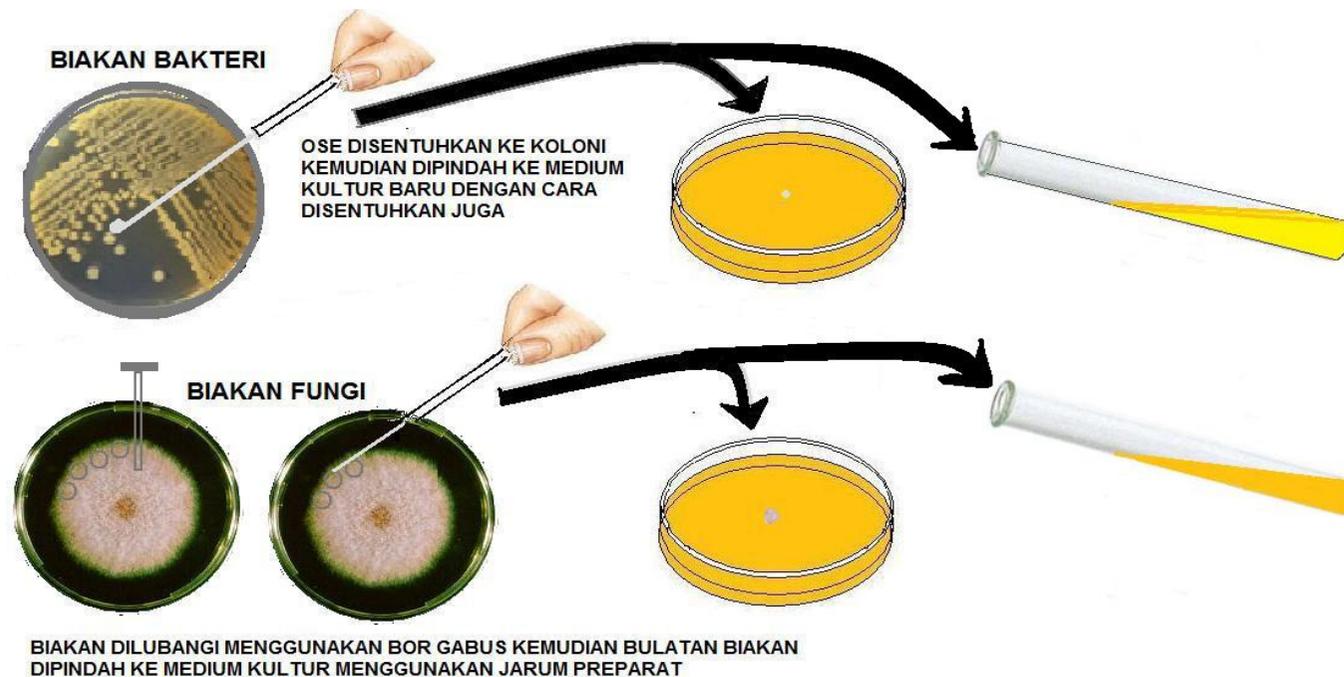
- Memahami beberapa cara memisahkan dan mengembangbiakkan mikroorganismen

TEKNIK MEMBIAKAN MIKROORGANISME

1. Menyiapkan ruangan steril: ruangan harus bebas dari angin, bersih, dan steril. Ruang isolasi dapat berupa enkas atau laminar air flow
2. Menyiapkan diri (pelaku) untuk tidak membawa kontaminan
3. Menyiapkan bahan dan alat steril
4. Memindahkan mikroorganisme menggunakan kawat inokulasi atau menggunakan pipet
5. Memisahkan mikroorganisme sebagai biakan murni

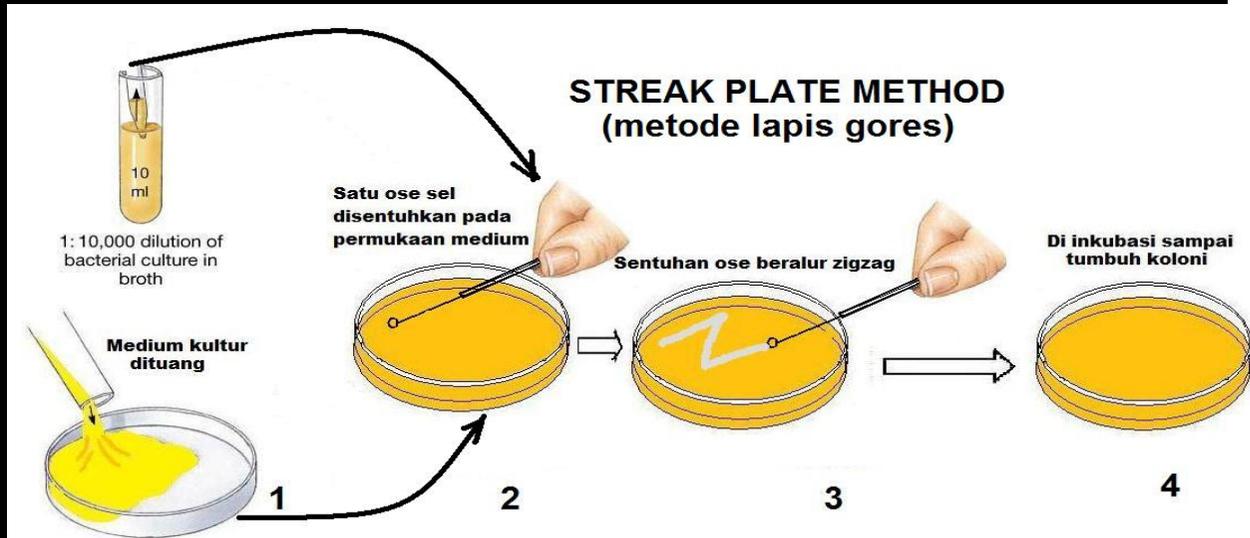
Memindahkan mikroorganisme menggunakan kawat inokulasi

- kawat sebaiknya dari platina,
- ujungnya berupa kolongan bulat = ose, untuk unisel
- ujungnya lurus = jarum ent, untuk mengambil dan menaruh mikroorganisme multisel



Memindahkan mikroorganisme menggunakan kawat ose (metode gores)

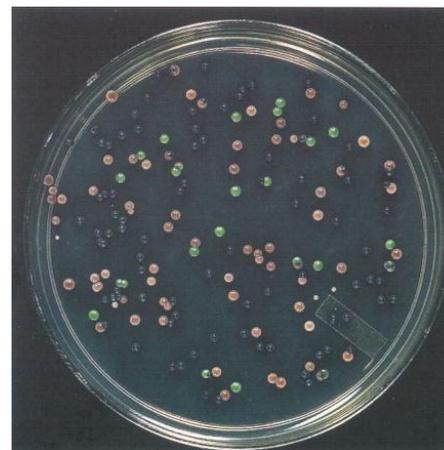
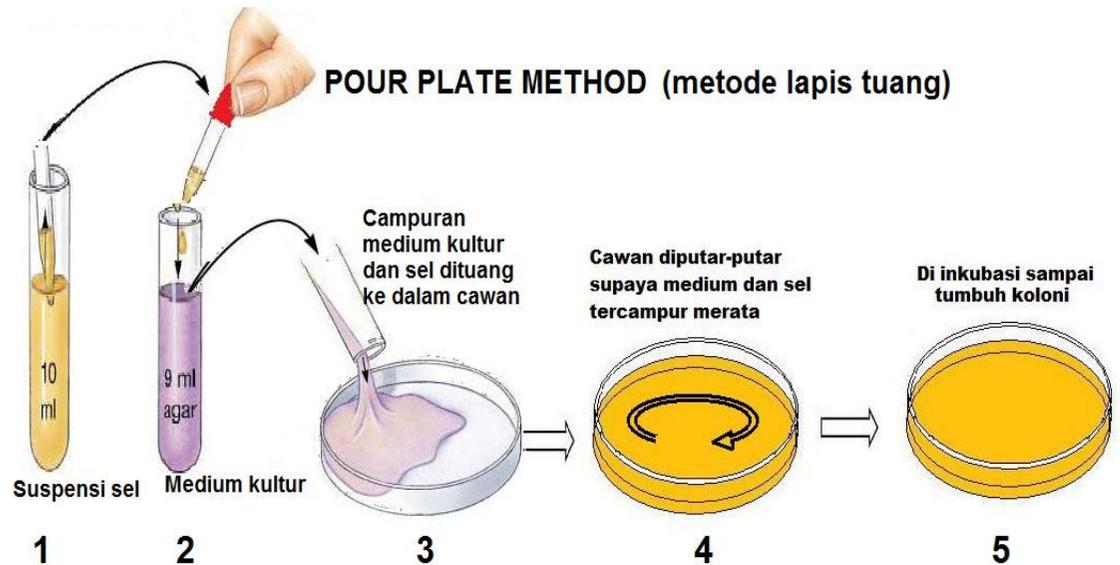
Streak plate (gores): ose yang telah dicelupkan ke dalam suspensi bakteri digoreskan pada permukaan medium padat



Hasilnya bakteri tumbuh di permukaan medium sepanjang goresan

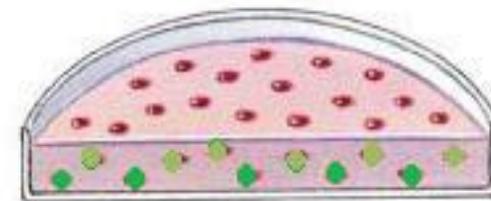
Memindahkan mikroorganisme menggunakan pipet (metode tuang)

Pour-plate (TUANG):
suspensi mikroorganisme dipipet diteteskan ke dalam cawan petri steril kemudian dituangi medium kultur yang masih encer dan suspensi dicampur dengan cara digoyang-goyang



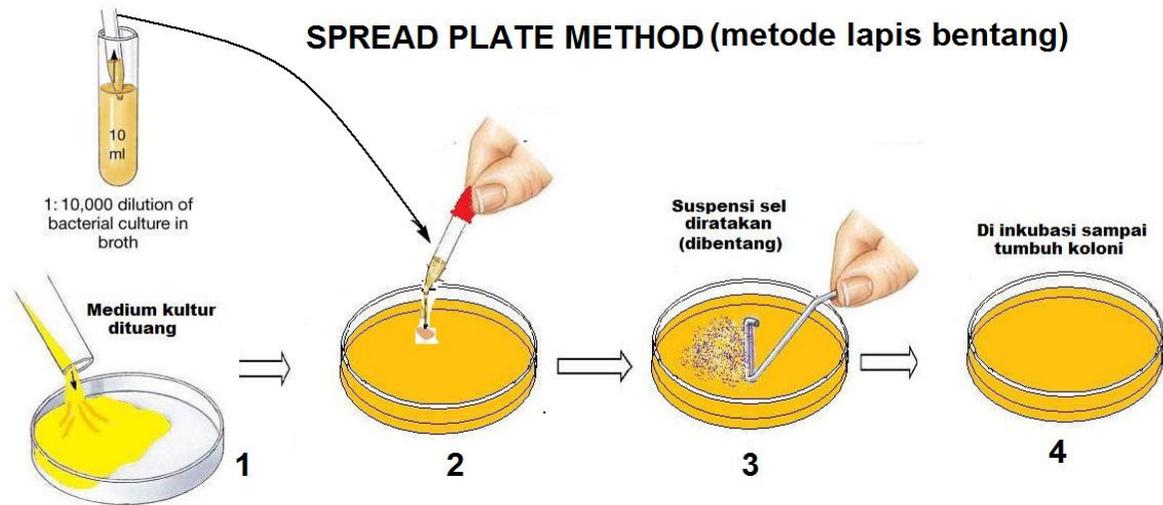
Bambang Purnomo

Hasilnya bakteri tumbuh menyebar di permukaan maupun di dalam medium

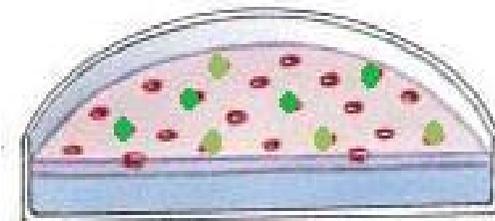


Memindahkan mikroorganisme menggunakan pipet (metode tebar)

Spread-plate (TEBAR):
Cawan petri steril dituangi medium kultur, setelah medium memadat ditetesi suspensi mikroorganisme dan suspensinya diratakan menggunakan batang gelas bentuk L



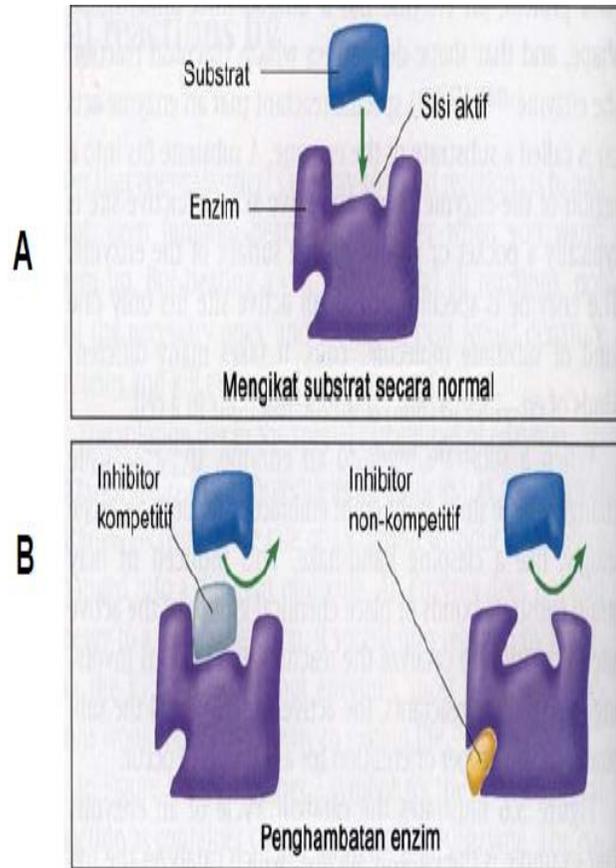
Hasilnya bakteri tumbuh menyebar di permukaan medium



Enzim dan Metabolisme

BAHASAN:

1. Enzim dan macamnya
2. cara kerja enzim
3. Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim



TUJUAN:

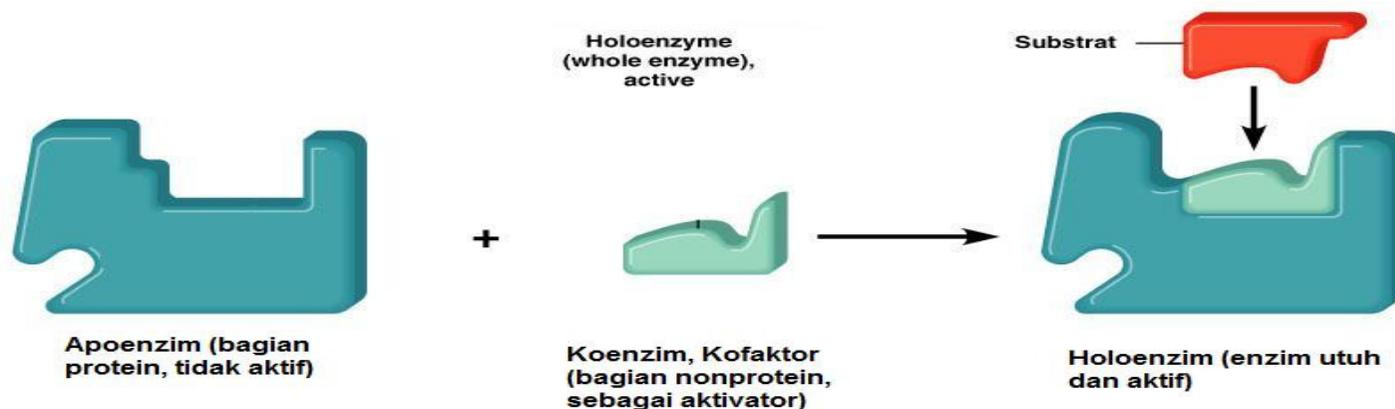
1. Memahami kelompok-kelompok enzim
2. Memahami teori cara kerja enzim dalam mengambil dan merombak nutrisi
3. Memahami pengaruh faktor-faktor yang berpengaruh terhadap kerja enzim

Pengertian Enzim

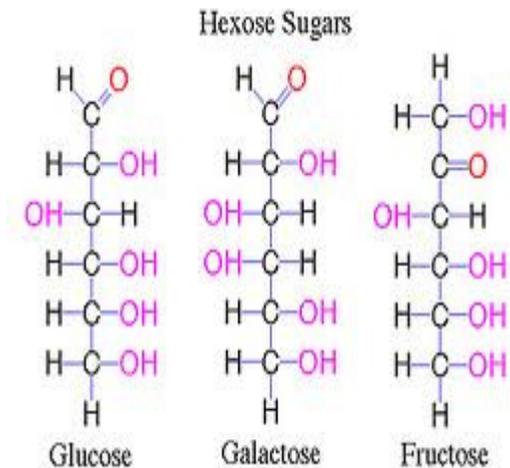
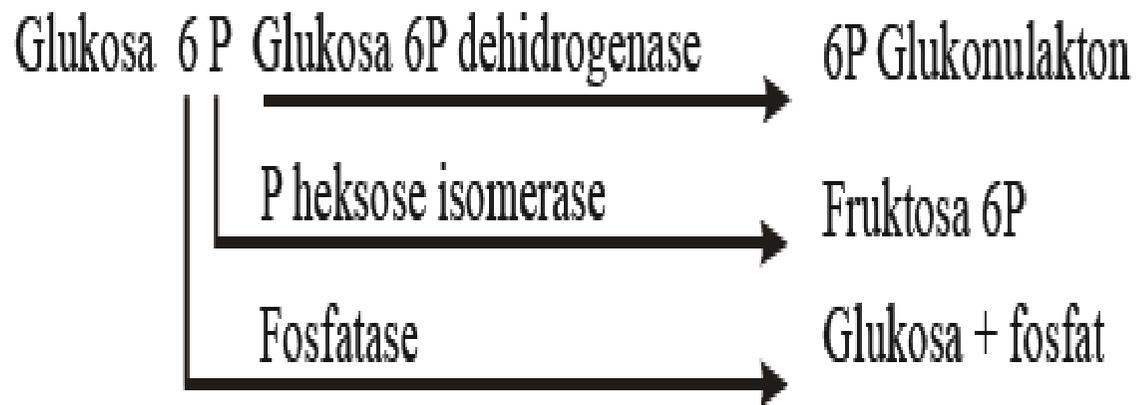
- **Enzim** adalah biokatalisator organik yang dihasilkan oleh mikroorganisme hidup di dalam protoplasma, yang terdiri atas protein atau suatu senyawa yang berikatan dengan protein
- Fungsi enzim:
 - mempercepat atau memperlambat reaksi biokimia
 - mengatur sejumlah reaksi yang berbeda-beda dalam waktu yang sama
- **Hampir semua enzim merupakan protein.**

Pengertian Enzim

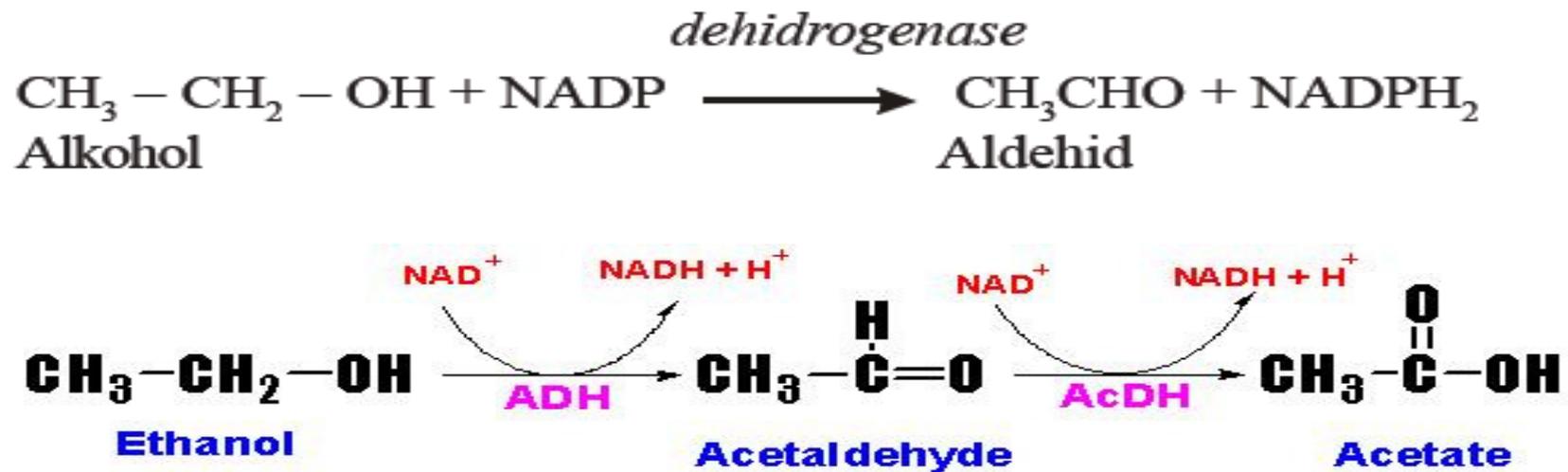
- Enzim tersusun atas dua bagian yaitu ***apoenzim*** dan ***koenzim*** gabungan keduanya disebut ***holoenzim***.
- Apabila ***holoenzim*** dipisahkan satu sama lainnya menyebabkan enzim tidak aktif.
- Nutrien (molekul) yang dirombak disebut ***substrat***



- **Apoenzim** adalah bagian protein dari enzim, bersifat tidak tahan panas, dan berfungsi menentukan kekhususan dari enzim
- Contoh, dari substrat yang sama (glukosa-6P) dapat menjadi senyawa yang berlainan, tergantung dari apoenzimnya

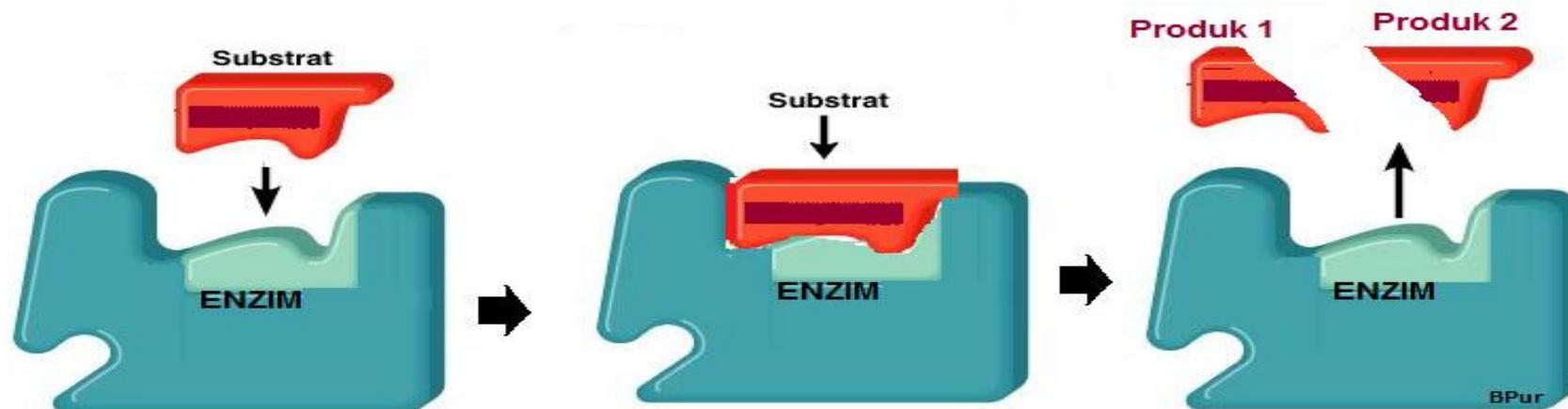


- **Koenzim** bersifat termostabil (tahan panas), mengandung ribose dan fosfat.
- Fungsinya menentukan sifat dari reaksinya.
- Misalnya, Apabila koenzim NADP (*Nicotiamida Adenin Denukleotid Fosfat*) maka reaksi yang terjadi adalah **dehidrogenase**. NADP berfungsi sebagai akseptor hidrogen
- Koenzim dapat bertindak sebagai penerima/akseptor hidrogen, seperti NAD atau donor dari gugus kimia, seperti ATP (*Adenosin Tri Fosfat*)



Fungsi pokok Enzim

1. Mempercepat atau memperlambat reaksi kimia.
 2. Mengatur sejumlah reaksi yang berbeda-beda dalam waktu yang sama.
- Molekul awal reaksi yang dikatalisasi oleh enzim disebut **substrat**
 - molekul-molekul lain hasil reaksi yang dikatalisasi oleh enzim disebut **produk**



Sifat-sifat enzim

1. Enzim mengalami denaturasi/ kerusakan pada temperatur (suhu) tinggi → $>37^{\circ}\text{C}$
2. Efektif, meskipun dalam jumlah sedikit.
3. Tidak berubah pada waktu reaksi berlangsung.
4. Tidak memengaruhi keseimbangan, tetapi hanya mempercepat reaksi.
5. Spesifik untuk reaksi tertentu.

Enzim dibedakan menjadi enam kelompok

1. **Hidrolase** : mengkatalisis reaksi hidrolisis atau penambahan molekul air untuk memecahkan ikatan kimia substrat.
 - a. Pada mikroorganisme enzim-enzim ini diekskresikan ke luar tubuh (lingkungan) sehingga senyawa-senyawa besar di luar tubuh dipecah dulu oleh enzim menjadi molekul yang lebih kecil atau larut dan dapat memasuki sel sebagai nutrisi. Oleh karena itu enzim hidrolase disebut *eksoenzim*.
 - b. Contoh enzim hidrolase yaitu :
 - 1) selulase (menghidrolisis selulose menjadi glukose),
 - 2) amilase (menghidrolisis amilum menjadi maltosa),
 - 3) protease (menghidrolisis protein menjadi asam amino),
 - 4) lipase (menghidrolisis lemak menjadi gliserol dan asam lemak),
 - 5) nuklease (menghidrolisis RNA dan DNA menjadi molekul yang lebih kecil).
 - c. Eksoenzim ini bertanggung jawab terhadap kemampuan mikroorganisme untuk mengabsorpsi nutrisi dari bahan yang ukuran molekulnya besar.
 - d. Beberapa eksoenzim merupakan racun dan menyebabkan mikroorganisme menjadi bersifat penyebab penyakit dengan mengkatalisis reaksi-reaksi yang merusak komponen sel organisme lain.

ensim dibedakan menjadi enam kelompok

2. *Oksidoreduktase* : mengkatalisis reaksi pemindahan elektron atau atom hidrogen (transfer elektron) dan menghasilkan energi.
3. *Transferase* : mengkatalisis reaksi pemindahan gugusan kimia fungsional (fosfat, amino, metil,) dari suatu substrat ke substrat lain menjadi senyawa yang dapat digunakan untuk sintesis material sel. Jika yang dipindahkan fosfat dari ATP ensimnya diberi nama kinase
4. *Liase* : mengkatalisis reaksi penambahan gugusan ikatan ganda pada molekul dan membuang gugusan non-hidrolitik dengan meninggalkan ikatan ganda.
 - pembuangan air (malat \rightarrow fumarat + H_2O),
 - pembuangan amoniak (serin \rightarrow piruvat + NH_3 + H_2O),
 - pembuangan gugus karboksil (lisin \rightarrow verin + CO_2).

ensim dibedakan menjadi enam kelompok

5. *Isomerase* : mengkatalisis reaksi isomerisasi atau pengubahan suatu senyawa menjadi isomernya (senyawa yang memiliki atom-atom yang sama tetapi berbeda struktur molekulnya,
 - manosa → fruktosa ;
 - L_glutamat → D_glutamat).
6. *Ligase* : mengkatalisis reaksi penggabungan dua molekul menjadi satu molekul atau pembentukan ikatan disertai pemecahan atau penambahan ATP (adenin triphosphat)

[Contoh kerja ensim](#)

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor

1. Umumnya, terdapat hubungan yang sebanding antara substrat dengan hasil akhir apabila konsentrasi enzim tetap, pH konstan, dan temperatur konstan.

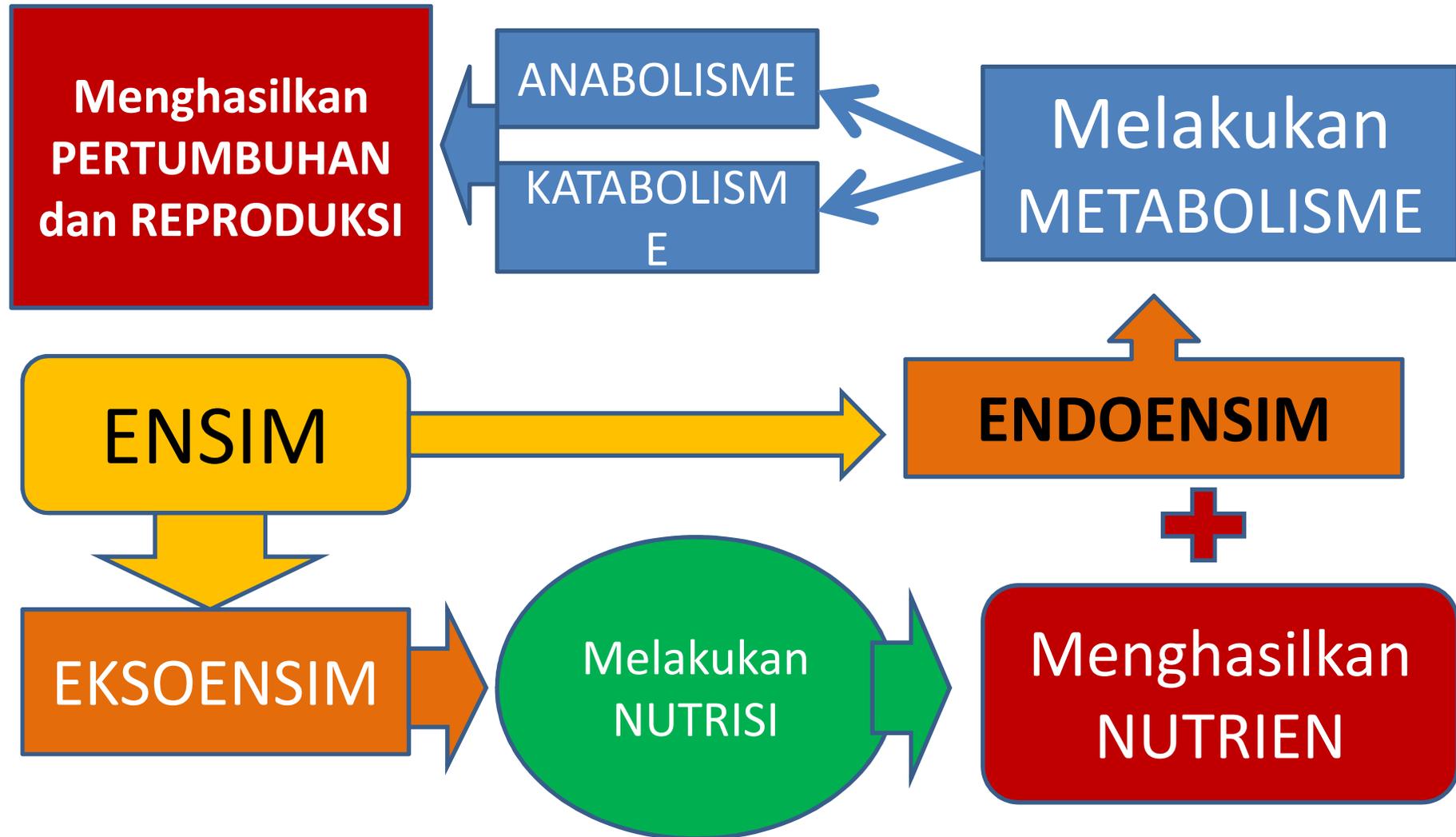
Jadi, apabila substrat yang tersedia dua kali lipat, maka hasil akhir juga dua kali lipat

2. Suhu dan keasaman (pH) optimum untuk setiap enzim berbeda-beda karena enzim adalah protein, yang dapat mengalami perubahan bentuk jika suhu dan keasamannya berubah

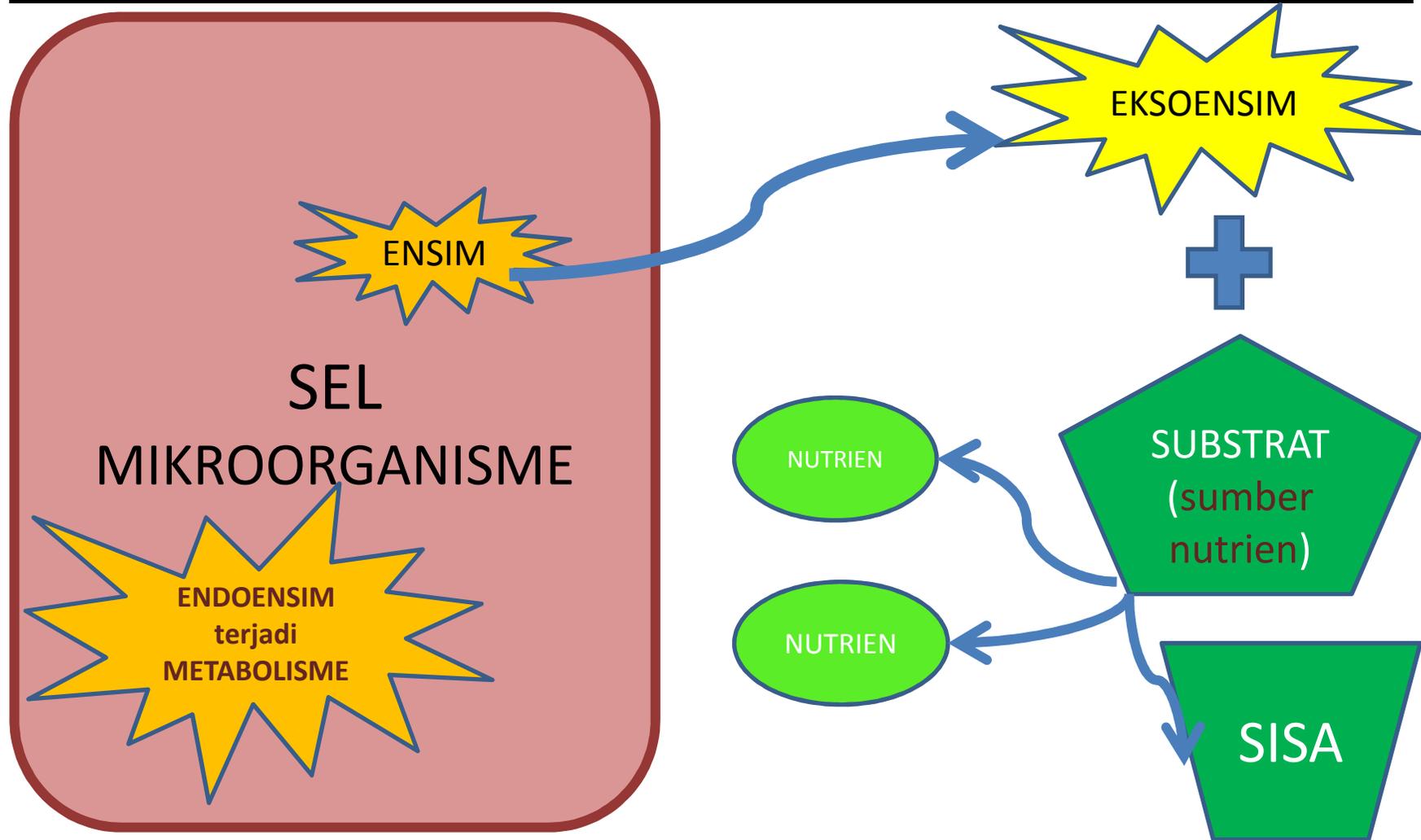
Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor

3. Kofaktor : komponen tambahan (non-protein,) untuk mencapai aktivitas penuhnya.
 - Kofaktor zat anorganik (contohnya ion logam)
 - Kofaktor zat organik (contohnya flavin dan heme).
 - Kofaktor dapat berupa *gugus prostetik* yang mengikat dengan kuat,
 - Kofaktor berupa koenzim, yang akan melepaskan diri dari tapak aktif enzim semasa reaksi
4. **Inhibitor molekul yang menurunkan aktivitas enzim, misal:** garam-garam dari logam berat
5. **Aktivator:** meningkatkan aktivitas enzim
6. Hasil akhir: Jika hasil akhir berlebihan (banyak), maka akan menghambat aktivitas enzim

PEKERJAAN ENSIM MIKROORGANISME



MEKANISME NUTRISI



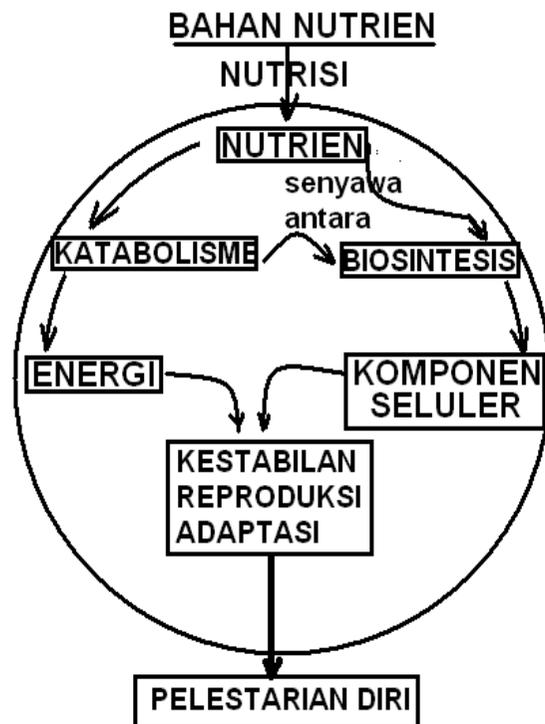
CARA MENDAPATKAN NUTRIEN

- Absorpsi
 - [Difusi](#)
 - [Osmosis](#)
- [Fagositosis](#)
- Fotosintetik
 - [F. Terang](#)
 - [F. Gelap](#)

Perhatikan animasi
berikut ini ([klik link](#))

Metabolisme Mikroorganisme

Pertemuan 2-5



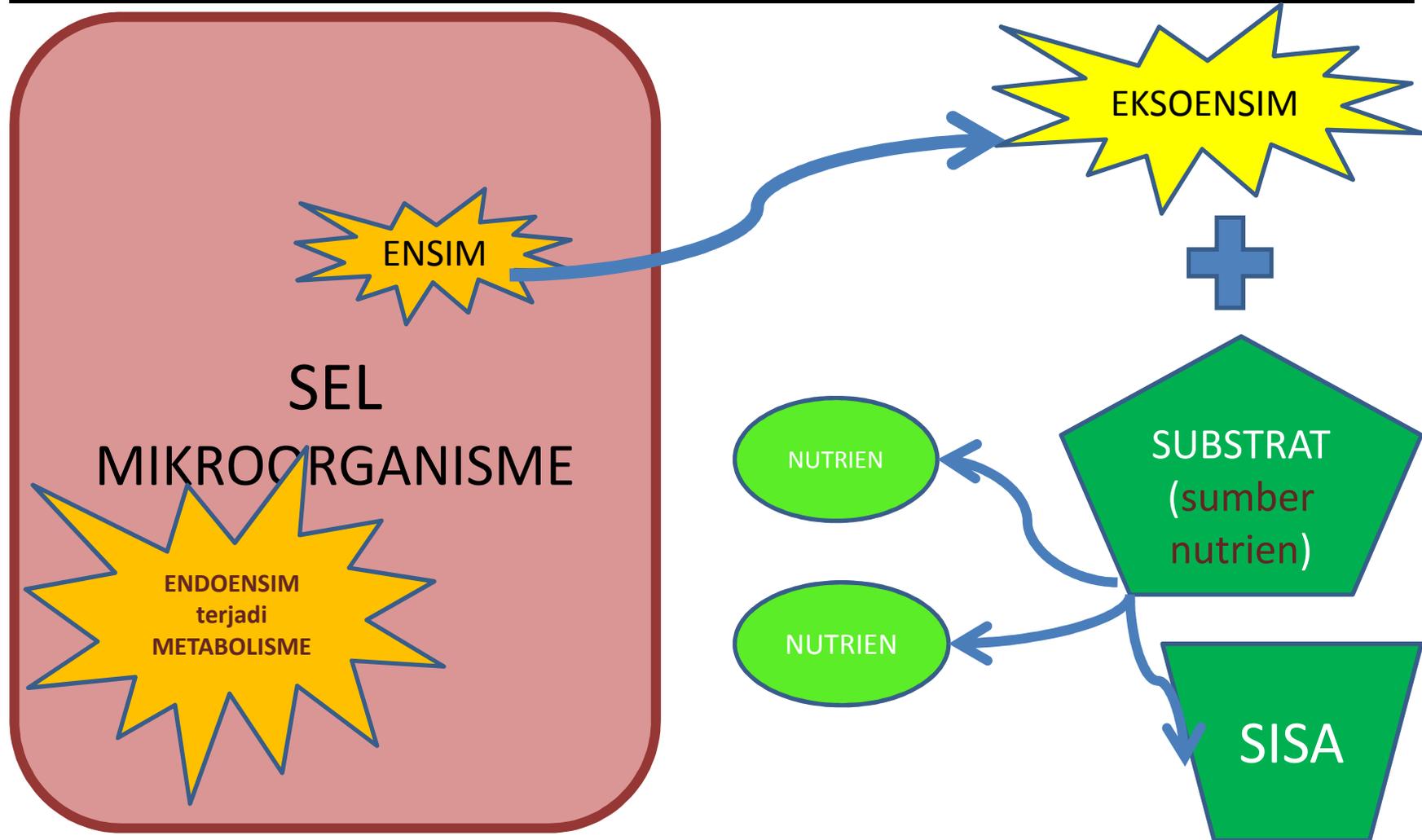
BAHASAN:

- Katabolisme
- Anabolisme

TUJUAN:

Memahami teori kehidupan mikroorganisme dari segi biokimia praktis

review: PEROMBAKAN SUBSTRAT



PRINSIP-PRINSIP METABOLISME

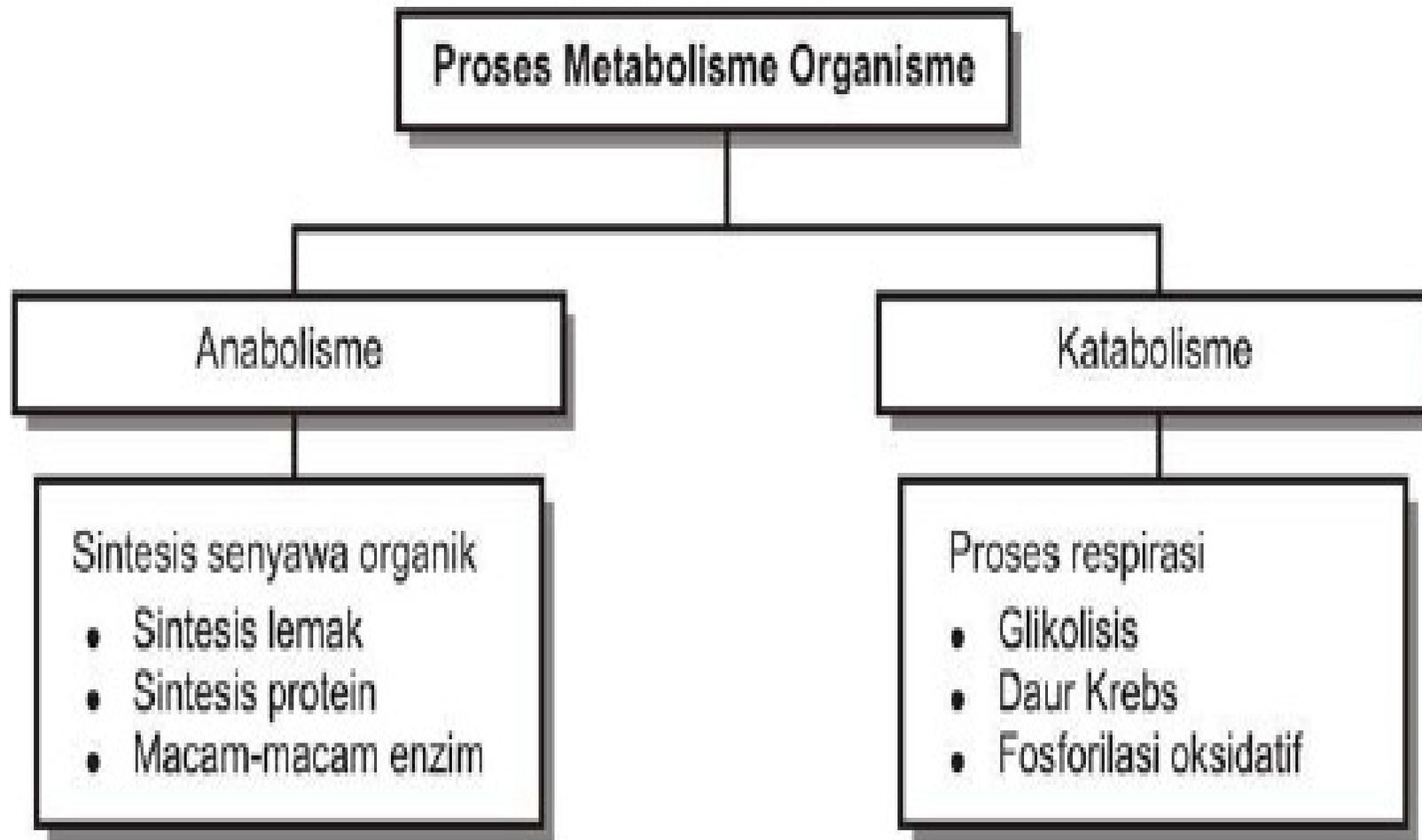
- **Metabolism is the process of chemical reactions that produce or use biomolecules and energy**
- *Metabolisme adalah proses kimia yang terjadi di dalam sel mikroorganisme yang menghasilkan atau menggunakan biomolekul dan energi untuk sintesis komponen sel, analisis komponen sel dan kegiatan-kegiatan seluler lainnya*
- **Some metabolic processes are common to all microorganism, while others are unique**
- Banyak proses metabolisme bersifat umum untuk semua mikroorganisme, meskipun ada beberapa yang khas, misalnya: pembentukan antibiotik

PRINSIP-PRINSIP METABOLISME

- Metabolism has two components
 - **Catabolism**
 - The break-down of macromolecules into subunits (e.g., polypeptides to amino acids)
 - Generates energy (ATP) for use by the cell
 - Generates waste products
- **Katabolisme** atau disimilasi merupakan kegiatan metabolisme sel yang membebaskan energi (eksergonik) melalui perobakan atau oksidasi nutrien = proses penguraian dan pembebasan energi dari senyawa-senyawa organik melalui proses respirasi
 - **Anabolism**
 - Synthesis of macromolecules and cellular products
 - Consumes energy
- **Anabolisme** atau asimilasi merupakan kegiatan metabolisme sel yang menggunakan energi (endergonik) untuk sintesis dan fungsi sel lainnya = proses-proses penyusunan energi kimia melalui sintesis senyawa-senyawa organik

PRINSIP-PRINSIP METABOLISME (cont.)

- Eksoensim yang diekresikan mikroorganisme untuk merombak nutrien di luar sel, *merupakan produk metabolisme*.
- Jika substrat atau bahan organik telah berubah menjadi nutrien sederhana yang diperlukan dan masuk ke dalam sel maka endoensim akan mengubahnya kembali menjadi ramuan kompleks protoplasma yang mengandung energi.
- Kedua proses katabolisme dan anabolisme meskipun saling berlawanan, tetapi keduanya berlangsung serentak dan serempak
- **Umumnya, hasil akhir anabolisme merupakan senyawa pemula untuk proses katabolisme**



KATABOLISME MAKROMOLEKUL

- Karbohidrat adalah polisakarida, suatu polimer dari gula sederhana (glukosa, galaktosa, fruktosa, dll) dipecah oleh: enzim eksohidrolase (memutus dari ujung) dan enzim endohidrolase (memutus secara random)
- **Macam-macam proses metabolisme karbohidrat**
 - **Glikogenesis:** proses pembentukan glikogen dari glukosa
 - **Glikolisis:** proses penguraian karbohidrat menjadi piruvat
 - **Daur Krebs:** Piruvat diubah menjadi asam laktat, etanol, dan sebagian asetat. Asetat khususnya asetil koenzim-A dapat diolah lebih lanjut dalam suatu proses siklis yang disebut lingkaran trikarboksilat (siklus Krebs)

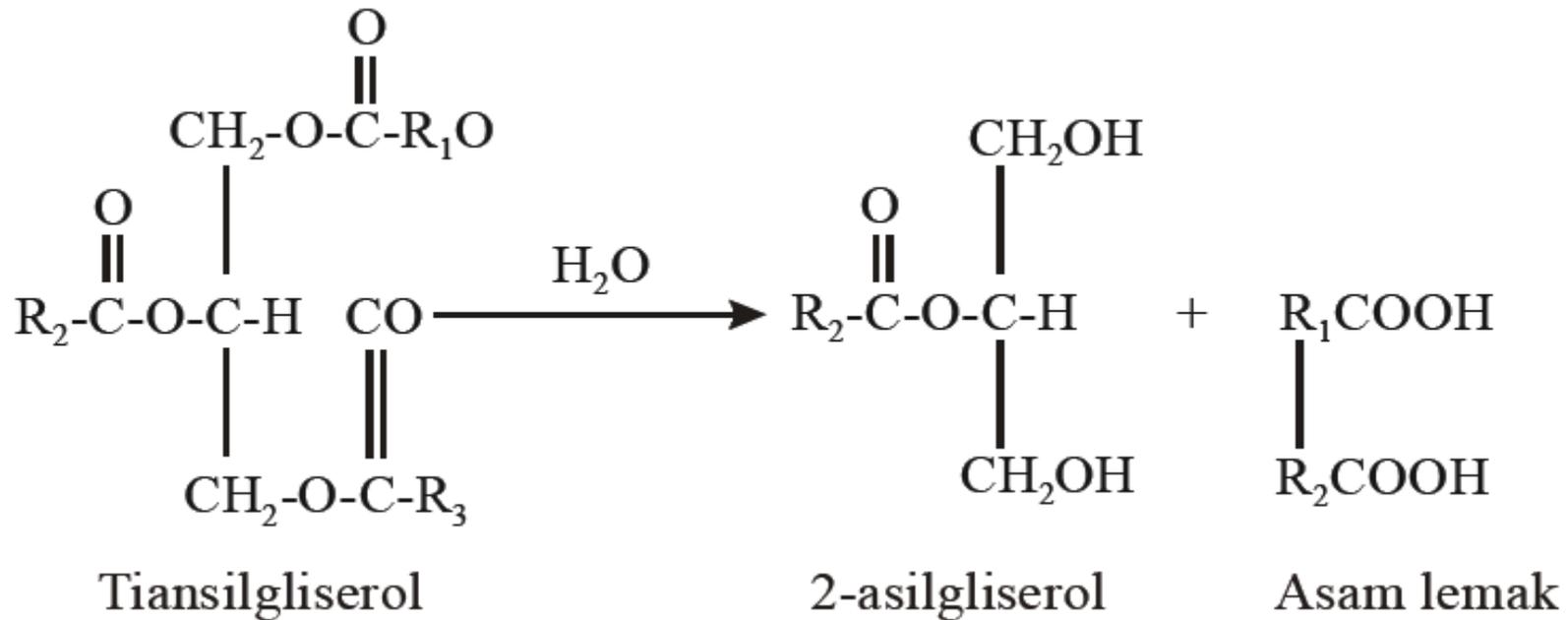
Istilah yang berhubungan dengan metabolisme penguraian glukosa

1. **Fermentasi** atau peragian adalah proses penguraian senyawa kimia yang menghasilkan gas. Dalam hal ini adalah penguraian karbohidrat, etanol, dan CO₂.
2. **Glikolisis aerob** adalah proses penguraian karbohidrat menjadi piruvat.
3. **Glikolisis anaerob** adalah proses penguraian karbohidrat menjadi laktat tanpa melibatkan O₂.
4. **Respirasi** adalah proses reaksi kimia yang terjadi apabila sel menyerap O₂, menghasilkan CO₂ dan H₂O.

KATABOLISME MAKROMOLEKUL

- Lipid (lemak) adalah ester dari gliserol dan asam lemak (trigliserida) dipecah oleh: enzim lipase.
 - Gliserol dirombak lebih lanjut lewat glikolisis.
 - Asam lemak mengalami oksidasi menjadi asam asetat, sebagai Acetyl-CoA dimetabolisme lebih lanjut lewat siklus Krebs
- peranan mikrobiologi dari lipid sebagai berikut.
 1. Sebagai komponen struktur membran.
 2. Sebagai lapisan pelindung permukaan sel yang berperan dalam proses kekebalan
 3. Sebagai bentuk energi cadangan (sumber energi)
 4. Sebagai komponen dalam proses pengangkutan melalui membran.

Reaksi hidrolisis LIPID



KATABOLISME MAKROMOLEKUL

- Protein adalah poli-peptida, suatu heteropolimer dari asam amino. Enzim protease (poli-peptidase, oligo-peptidase, dipeptidase) merombak protein menjadi peptida (asam amino) yang lebih sederhana.
 - Selanjutnya asam amino mengalami transaminasi, deaminasi, dekarboksilasi, atau dehidrogenasi menjadi zat yang dapat dimetabolisme lewat siklus Krebs

KATABOLISME MAKROMOLEKUL

- Asam nukleat (DNA dan RNA) adalah heteropolimer dari nukleotida. Enzim nuklease, nukleotidase, nukleosida fosforilase, dan nukleosida hidrolase akan memecah asam nukleat menjadi oligo, di, atau mono nukleotida
 - selanjutnya menjadi gula ribosa atau deoksi-ribosa, asam fosfat, base purin dan base pirimidin.

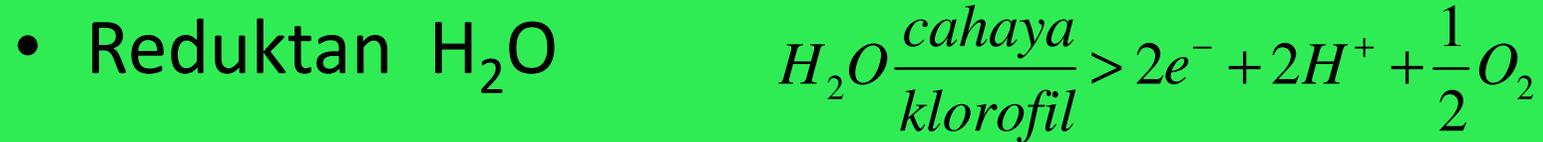
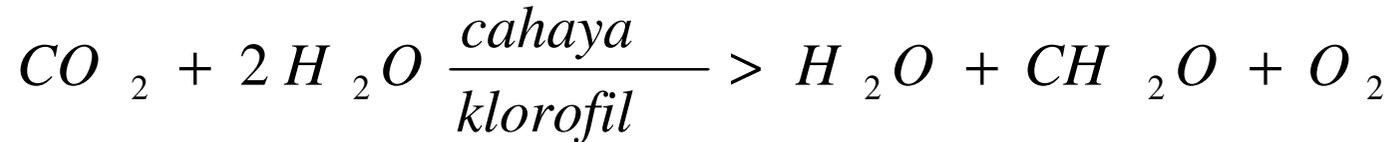
OKSIDASI-REDUKSI

- Oksidasi diartikan sebagai kehilangan elektron,
- Reduksi berarti memperoleh satu atau lebih elektron
- Setiap pemindahan elektron dari satu molekul ke molekul lainnya maka ada molekul yang dioksidasi dan ada molekul yang direduksi
- oksidasi mikrobiologi dikatalis oleh enzim *dehidrogenase* [NAD (*nikotinamida adenin dinukleotida*) atau NADP sehingga terbentuk NADH atau NADPH]

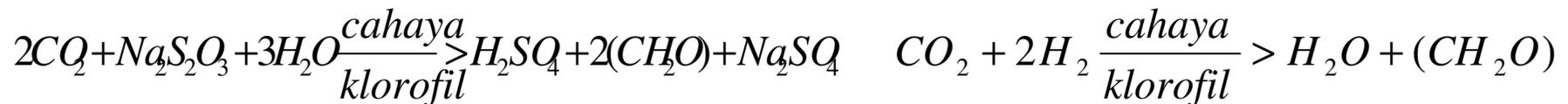
FOTOSINTESIS

- Mikroorganismen yang mengandung klorofil akan memperoleh energinya langsung dari cahaya dan sumber karbon dari gas CO₂ di udara
- Fotosintesis terdiri dari dua sistem, yaitu :
 - *Fotosistem 1* menyediakan energi yang diperlukan untuk reduksi CO₂ menjadi karbohidrat dan yang berhubungan dengan biosintesis maupun pemeliharaan sel
 - Fotosistem 2 memancarkan elektron pada tingkat energi tinggi dan menyediakan reduktan dalam bentuk koenzim NADPH

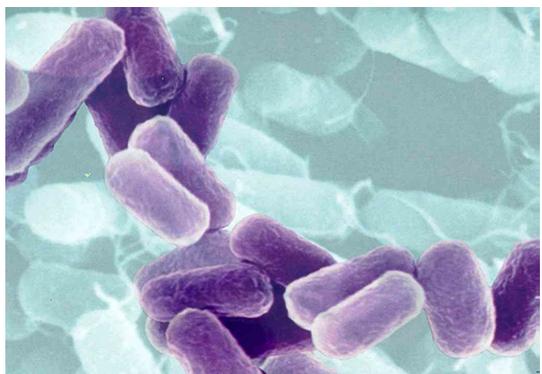
FOTOSINTESIS



- bakteri fotosintetik air (H_2O) bukan merupakan sumber reduktan dan oksigen tidak pernah terbentuk sebagai produk fotosintesisnya



Pertumbuhan Mikroorganismen



BAHASAN:

- Pertumbuhan dan kurve pertumbuhan mikroorganismen

TUJUAN:

1. Memahami pola pertumbuhan
2. Membedakan cara pengukuran pertumbuhan mikroorganismen

Pengertian Tumbuh dan Berkembang

- Tumbuh diartikan sebagai bertambahnya ukuran,
 - pertambahan panjang,
 - pertambahan luas,
 - pertambahan volume,
 - pertambahan berat
 - pertambahan kandungan zat tertentu
- Berkembang diartikan sebagai bertambahnya kuantitas
 - bertambahnya jumlah individu
 - terbentuknya alat reproduksi

Pertumbuhan mikroorganisme dapat ditinjau dari dua sudut

1. Pertumbuhan individu diartikan sebagai bertambahnya ukuran tubuh

- kecil => besar
- Pendek => panjang
- Ringan => berat

2. Pertumbuhan populasi diartikan sebagai bertambahnya kuantitas individu dalam suatu populasi atau bertambahnya ukuran koloni

- Sedikit => banyak
- Sempit => luas
- Ringan => berat

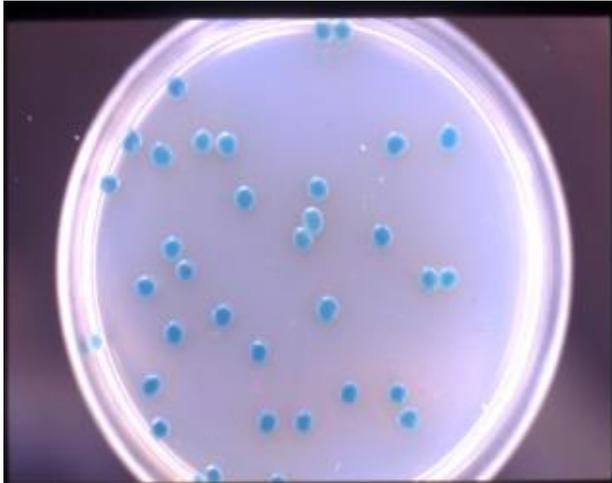
PERTUMBUHAN DAN REPRODUKSI MIKROORGANISME ([link](#))

1. MIKROORGANISME MULTISEL

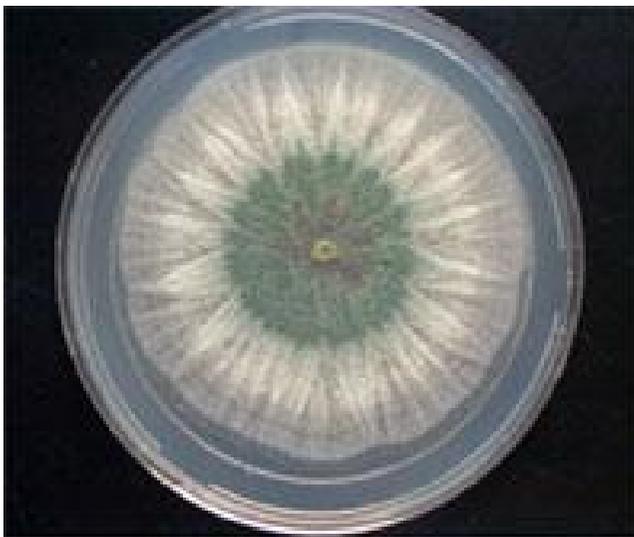
2. MIKROORGANISME UNISEL

- Waktu yang dibutuhkan dari mulai tumbuh sampai berkembang dan menghasilkan individu baru disebut **waktu generasi**
 - bakteri *Escherichia coli* dalam saluran pencernaan manusia mempunyai waktu generasi 15 - 20 menit
 - *Salmonella typhi* mempunyai waktu generasi beberapa jam-jam
- Koloni MO merupakan kumpulan MO pada medium kultur yang berasal dari hasil pertumbuhan atau keturunan satu sel MO yang bersangkutan

Koloni dan biakan



- Koloni bakteri
- biakan bakteri



- biakan fungi

REPRODUKSI (PERKEMBANGBIAKAN)

- Reproduksi mikroorganisme dapat terjadi secara seksual (kawin) dan aseksual (tanpa kawin).
- **Perkembangbiakan mikroorganisme yang umum dilakukan secara aseksual**
- **Perkembangbiakan aseksual ini sering disebut juga reproduksi vegetatif.**

Perkembangbiakan aseksual (REPRODUKSI VEGETATIF)

1. pembelahan (fission),
2. pertunasan (budding),
3. pembentukan spora aseksual.

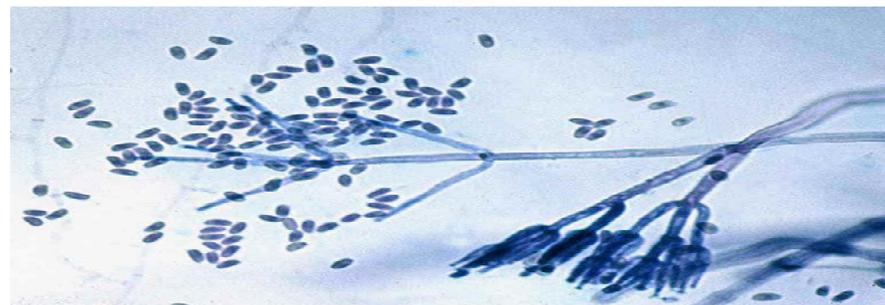
MEMBELAH MEMBUJUR



MEMBELAH MELINTANG



BERTUNAS



Kuantitas atau ukuran pertumbuhan mikroorganisme dapat diukur dari

SEGI MORFOLOGI

1. *pertambahan dimensi satu,*
 - panjang,
 - diameter,
 - jari-jari,
 - jumlah sel
2. *pertambahan dimensi dua,*
 - luas,
3. *pertambahan dimensi tiga,*
 - volume,
 - berat

SEGI FISILOGI

1. *komponen seluler,*
 - RNA,
 - DNA,
 - protein
2. *kegiatan metabolisme*
 - kebutuhan oksigen,
 - karbon dioksida,
 - hasil gas-gas tertentu

4 cara MENGHITUNG SEL

1. Ditanam pada media padat

- Dihitung jumlah koloni dalam cawan petri
- Yang dihitung hanya sel hidup (membentuk koloni)

2. Menggunakan lempeng hitung

- Dihitung jumlah sel di dalam kotak haemocytometer menggunakan mikroskop
- Yang dihitung sel yang hidup maupun yang mati

3. Menggunakan alat deteksi kekeruhan (turbidometer)

- Yang dihitung semua zarah yang membentuk bayangan

4. Menggunakan tabel most probable number (MPN)

- Dasar perhitungan menggunakan reaksi biokimia
- Jumlah terhitung terdapat pada tabel hasil pengamatan reaksi positif dari kombinasi pengenceran dan ulangnya

CONTOH TABEL MPN (Most Probable Number)

Reaksi positif dari 5 tabung diinokulasi 1 mL			MPN/ mL
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
1	1	0	4
2	2	1	12
3	2	2	20
5	5	5	1.600

Reaksi positif dari 3 tabung diinokulasi 1 mL			MPN/ mL
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	
1	1	0	7
2	2	1	28
3	2	2	210
3	3	3	2.400

Menghitung sel hidup dengan cara ditanam pada media padat

Hasil perhitungan dikonversi ke contoh bahan

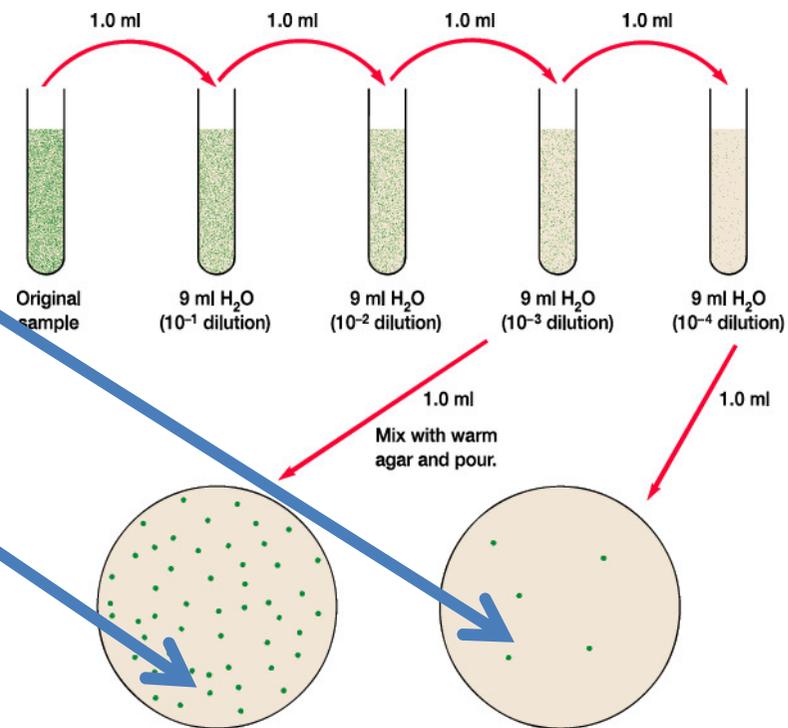
1. Contoh 10^{-4} tumbuh 5 koloni

- 1 ml 10^{-4} = 5 sel
- 1 ml bahan = 5 sel x 10^4
- Atau = 50.000 sel/ml bahan

2. Contoh 10^{-3} tumbuh 48 koloni

- 1 ml bahan = 48.000 sel

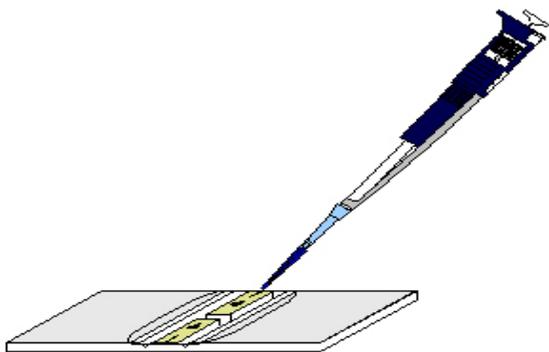
Rata-rata 1&2 = 49.000 sel/ml bahan



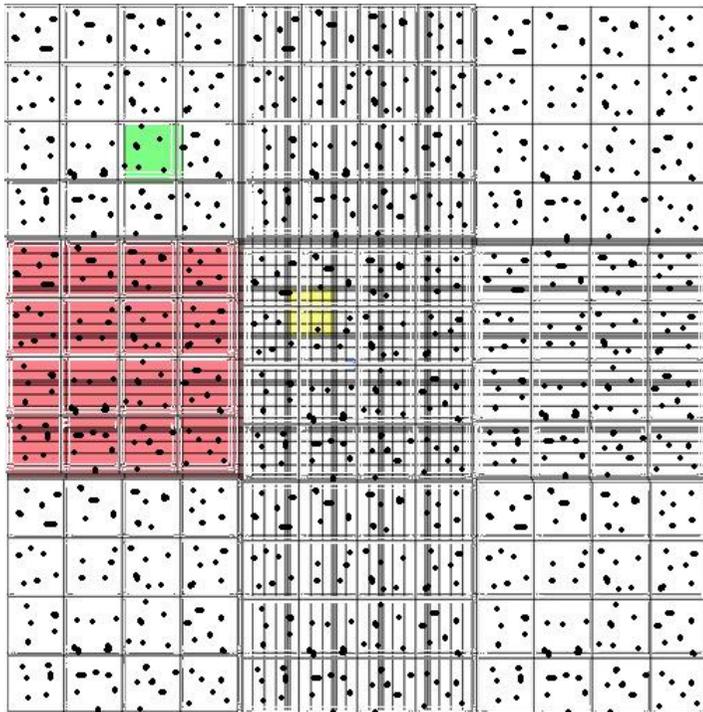
Menggunakan lempeng hitung (HAEMOCYTOMETER)



1. Ambil kotak wadah haemocytometer kemudian tetesi suspensi sel
2. Tutup dengan gelas penutup
3. Letakan haemocytometer di atas meja benda mikroskop kemudian jumlah sel setiap kotak di dalam haemocytometer



Menghitung dengan ruang hitung



Misalnya diambil dari suspensi 10^{-4}

Rata-rata kotak besar = 5 sel

1 kotak besar = 6,25 μ l

→ 6,25 μ l = 5 sel

1 μ l = 5/6,25 sel = 0,8 sel

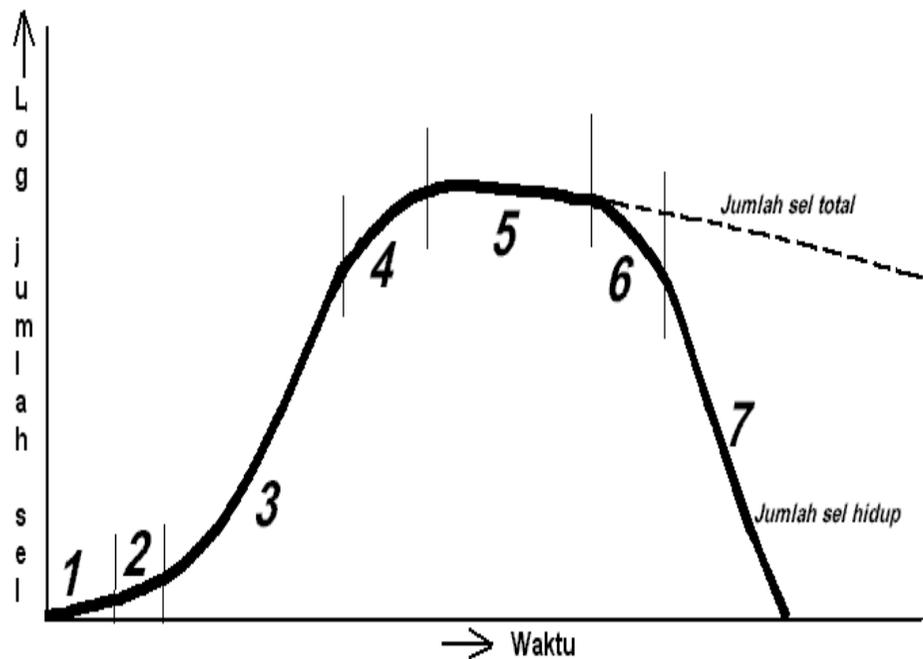
1 mL = 1.000.000 μ l

= 1.000.000 x 0,8 sel

= 800.000 sel

= $8 \cdot 10^5$ sel

KURVE PERTUMBUHAN



Kurve pertumbuhan mikroorganisme satu sel pada kondisi pertumbuhan optimal

JUMLAH SEL → 1

1.1

1.2.1

1.3.3.1

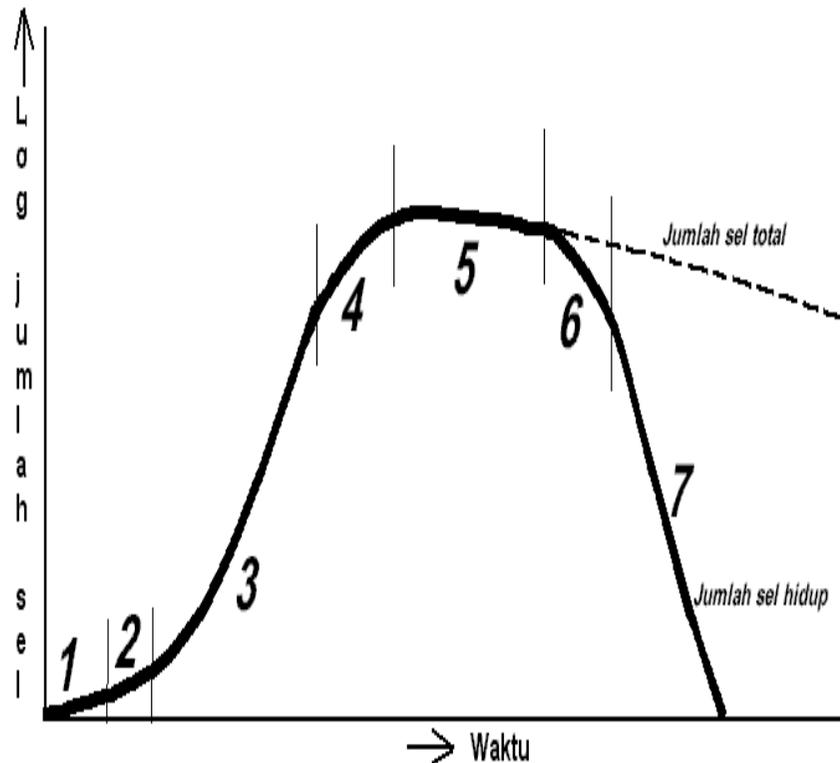
1.4.6.4.1

1.5.10.10.5.1

1.6.15.20.15.6.1

- JIKA JUMLAH SEL MIKROORGANISME UNISEL DI DALAM SATU KOLONI DIHITUNG SELAMA PERTUMBUHANNYA DAN DILOTKAN PADA GRAFIK MAKA AKAN MEMBENTUK KURVE SEPerti DI SEBELAH KIRI

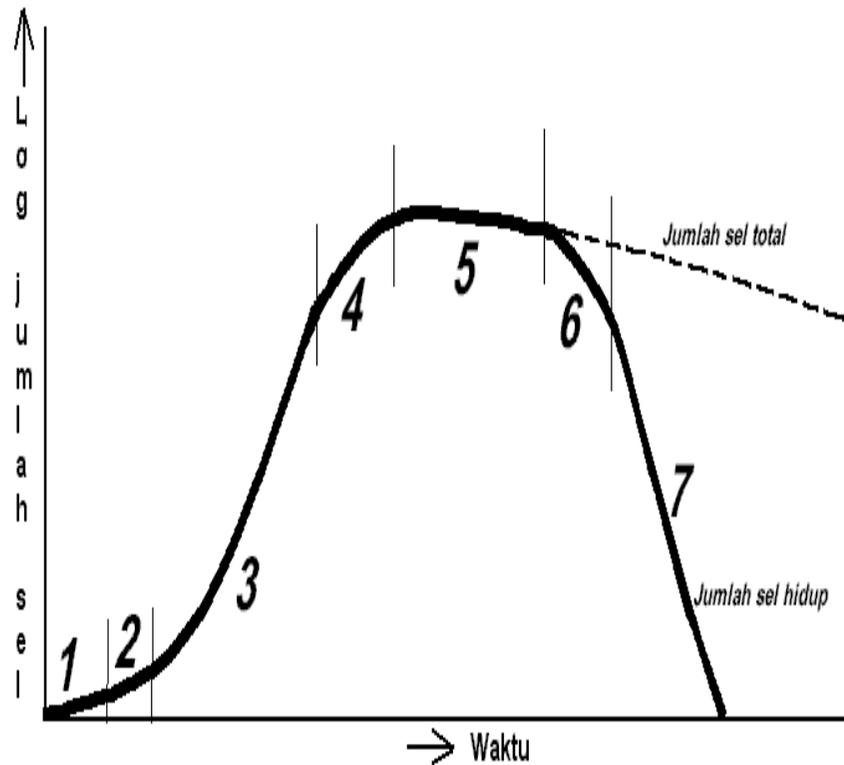
KURVE PERTUMBUHAN



Kurve pertumbuhan mikroorganisme satu sel pada kondisi pertumbuhan optimal

1. *Fase lag* (fase persiapan, fase permulaan, fase adaptasi atau fase penyesuaian) : merupakan fase pengaturan suatu aktivitas dalam lingkungan baru
2. *Fase akselerasi* merupakan fase mulainya aktivitas perubahan bentuk maupun pertambahan jumlah dengan kecepatan yang masih rendah
3. *Fase eksponensial* (logaritmik) merupakan fase peningkatan aktivitas perubahan bentuk maupun pertambahan jumlah mencapai kecepatan maksimum
4. *Fase retardasi* (pengurangan) merupakan fase dimana penambahan aktivitas sudah mulai berkurang atau menurun yang diakibatkan karena beberapa faktor, misalnya :
berkurangnya sumber hara,
terbentuknya senyawa penghambat

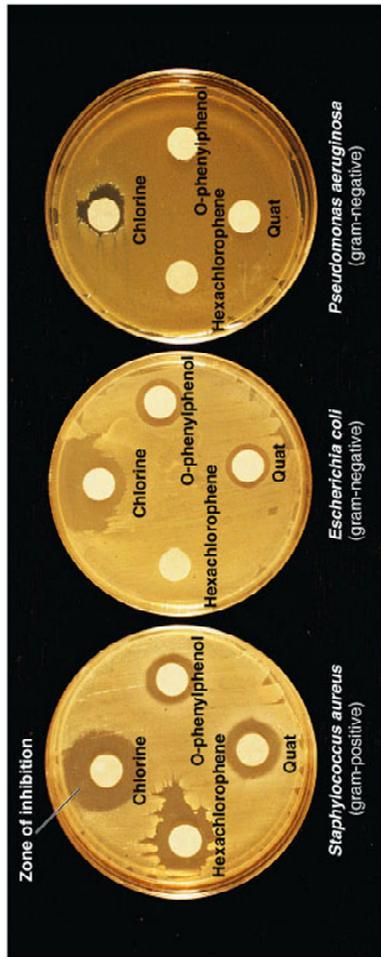
KURVE PERTUMBUHAN



Kurve pertumbuhan mikroorganisme satu sel pada kondisi pertumbuhan optimal

5. *Fase stasioner* merupakan fase terjadinya keseimbangan penambahan aktivitas dan penurunan aktivitas atau dalam pertumbuhan koloni terjadi keseimbangan antara yang mati dengan penambahan individu
6. *Fase kematian* merupakan fase mulai terhentinya aktivitas atau dalam pertumbuhan koloni terjadi kematian yang mulai melebihi bertambahnya individu
7. *Fase kematian logaritmik* merupakan fase peningkatan kematian yang semakin meningkat tanpa ada penambahan individu

PENGARUH LINGKUNGAN TERHADAP PERTUMBUHAN DAN PENGENDALIAN MIKROORGANISME



BAHASAN:

1. Pengaruh faktor biotik
2. Pengaruh faktor abiotik

TUJUAN:

Mempelajari pengaruh faktor lingkungan (biotik dan abiotik) terhadap pertumbuhan mikroorganisme untuk pengendaliannya

PENGARUH LINGKUNGAN TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

B. FAKTOR ABIOTIK

1. Fisika
 - Suhu
 - Kandungan air
 - Tekanan osmose
 - Ion-ion dan listrik
 - Buffer (penstabil pH)
 - Radiasi
 - Tegangan muka
2. Kimia
 - Antiseptik
 - Pestisida
 - Senyawa kimia lain

A. FAKTOR BIOTIK

1. Interaksi dalam satu populasi mikroorganisme
2. Interaksi antar berbagai macam populasi mikroorganisme
 - Netralisme
 - Komensalisme
 - Sinergisme (protokooperasi)
 - Mutualisme (simbiosis)
 - Kompetisi
 - Amensalisme (antagonisme)
 - Predasi
 - Parasitisme

A1. PENGARUH Interaksi individu dalam satu populasi TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

- Pengaruh positif (kooperasi) menyebabkan meningkatnya kecepatan pertumbuhan dan akan meningkatkan kecepatan pertumbuhan.
 - Contoh : pertumbuhan satu sel mikroorganisme menjadi koloni pada pertumbuhan fase lag (fase adaptasi)
- Pengaruh negatif (kompetisi) menyebabkan turunnya kecepatan pertumbuhan dengan meningkatnya kepadatan populasi. Contoh:
 - populasi mikroorganisme yang ditumbuhkan dalam substrat terbatas, sehingga mengeluarkan produk metabolik yang meracuni diri sendiri.
 - Jamur Fusarium dan Verticillium pada tanah sawah, dapat menghasilkan asam lemak dan H₂S yang bersifat meracun tanaman.

A2. PENGARUH FAKTOR BIOTIK

(Interaksi antar berbagai macam populasi)

TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

1. Netralisme adalah hubungan antara dua populasi yang tidak saling mempengaruhi. Terjadi pada :
 - kepadatan populasi yang sangat rendah
 - secara fisik dipisahkan dalam mikrohabitat,
 - keadaan mikroorganisme tidak aktif, misal dalam keadaan kering beku, atau fase istirahat (spora, kista).
2. Komensalisme antara dua populasi terjadi apabila satu populasi diuntungkan tetapi populasi lain tidak terpengaruh.
 - Bakteri *Flavobacterium brevis* dapat menghasilkan ekskresi sistein. Sistein dapat digunakan oleh *Legionella pneumophila* tanpa mempengaruhi *F. brevis*
 - *Desulfovibrio* mensuplai asetat dan H₂ untuk respirasi anaerobik *Methanobacterium*

A2. PENGARUH FAKTOR BIOTIK

(Interaksi antar berbagai macam populasi)

TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

3. Sinergisme : bentuk asosiasi yang menyebabkan terjadinya suatu kemampuan lebih untuk dapat melakukan perubahan kimia tertentu di dalam substrat.

- Apabila asosiasi melibatkan >2 populasi disebut sintropisme. Sintropisme sangat penting dalam peruraian bahan organik tanah, atau proses pembersihan air secara alami
 - Senyawa A diubah mikroorganisme 1 menjadi Senyawa B
 - Senyawa B diubah mikroorganisme 2 menjadi Senyawa C
 - Senyawa C diubah mikroorganisme 3 menjadi Energi dan hasil akhir

A2. PENGARUH FAKTOR BIOTIK

(Interaksi antar berbagai macam populasi)

TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

4. Mutualisme adalah asosiasi antara dua populasi mikroorganisme yang keduanya saling tergantung dan sama-sama mendapat keuntungan.
 - Mutualisme sering disebut juga simbiosis.
 - Simbiosis bersifat sangat spesifik (khusus) dan salah satu populasi anggota simbiosis tidak dapat digantikan tempatnya oleh spesies lain yang mirip.
 - Bakteri Rhizobium sp. pada bintil akar tanaman kacang-kacangan.
 - Lichenes (Lichens), yang merupakan simbiosis antara algae sianobakteria dengan fungi. Algae (phycobiont) sebagai produser yang dapat menggunakan energi cahaya untuk menghasilkan senyawa organik. Senyawa organik dapat digunakan oleh fungi (mycobiont), dan fungi memberikan bentuk perlindungan (selubung) dan transport nutrien / mineral serta membentuk faktor tumbuh untuk algae

A2. PENGARUH FAKTOR BIOTIK

(Interaksi antar berbagai macam populasi)

TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

5. Kompetisi hubungan negatif antara 2 populasi mikroorganisme yang keduanya mengalami kerugian.
 - Peristiwa ini ditandai dengan menurunnya sel hidup dan pertumbuhannya.
 - Kompetisi terjadi pada 2 populasi mikroorganisme yang menggunakan nutrisi yang sama, atau dalam keadaan nutrisi terbatas.
 - Contohnya adalah antara protozoa *Paramecium caudatum* dengan *Paramecium aurelia*

A2. PENGARUH FAKTOR BIOTIK

(Interaksi antar berbagai macam populasi)

TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

6. Antagonisme: asosiasi antar mikroorganisme yang tidak terjadi kontak secara fisik dan mengakibatkan salah satu pihak dirugikan.
 - Umumnya merupakan cara untuk melindungi diri terhadap populasi mikroorganisme lain. Misalnya dengan menghasilkan senyawa asam, toksin, atau antibiotika yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain
 - Contohnya adalah
 - Acetobacter yang mengubah etanol menjadi asam asetat.
 - Thiobacillus thiooxidans menghasilkan asam sulfat.
 - Bakteri amonifikasi menghasilkan ammonium yang dapat menghambat populasi Nitrobacter
 - Penicillium menghasilkan penisilin

A2. PENGARUH FAKTOR BIOTIK

(Interaksi antar berbagai macam populasi)

TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

7. Parasitisme asosiasi antara dua populasi, dimana populasi satu diuntungkan (parasit) dan populasi lain dirugikan (host/inang).
 - Umumnya parasitisme terjadi karena keperluan nutrisi dan bersifat spesifik.
 - Ukuran parasit biasanya lebih kecil dari inangnya.
 - Terjadinya parasitisme memerlukan kontak secara fisik maupun metabolik serta waktu kontak yang relatif lama.
 - Contohnya adalah Jamur *Trichoderma* sp. memparasit jamur *Agaricus* sp

B1. FAKTOR SUHU DAN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

- Suhu minimum adalah suhu terendah tetapi mikroorganisme masih dapat hidup.
- Suhu optimum adalah suhu paling baik untuk pertumbuhan mikroorganisme.
- Suhu maksimum adalah suhu tertinggi untuk kehidupan mikroorganisme
- mikroorganisme Psikofil adalah kelompok mikroorganisme yang dapat tumbuh pada suhu 0-30⁰C dengan suhu **optimum sekitar 15⁰C**.
- mikroorganisme Mesofil adalah kelompok mikroorganisme pada umumnya, mempunyai suhu minimum 15⁰C suhu **optimum 25-37⁰C** dan suhu maksimum 45-55⁰C
- mikroorganisme Termofil adalah mikroorganisme yang tahan hidup pada suhu tinggi. Suhu minimum 40 ⁰C, **optimum pada suhu 55-60⁰C** dan suhu maksimum untuk pertumbuhannya 75 ⁰C

B1a. SUHU TINGGI di atas suhu maksimum, mikroorganisme akan mengalami

1. Titik kematian thermal, adalah suhu yang dapat memetikan spesies mikroorganisme dalam waktu 10 menit pada kondisi tertentu.
2. Waktu kematian thermal, adalah waktu yang diperlukan untuk membunuh suatu spesies mikroorganisme pada suatu suhu yang tetap
3. Kematian thermal dipengaruhi oleh waktu, suhu, kelembaban, spora, umur mikroorganisme, pH dan komposisi medium
4. Pengaruh suhu terhadap waktu kematian thermal (TDT/ thermal death time)
 - Escherichia coli 20-30 °C selama 57 menit
 - Staphylococcus aureus 19 °C selama 60 menit
 - Spora Bacillus subtilis 20-50 °C selama 100 menit
 - Spora Clostridium botulinum 100-330 °C selama 100 menit

B1b. SUHU RENDAH di bawah suhu minimum, mikroorganisme akan mengalami

- Stres kedinginan (cold shock), disebabkan karena penurunan suhu yang tiba-tiba mengakibatkan kematian bakteri, terutama pada bakteri muda atau pada fase logaritmik
- Pembekuan (freezing), adalah rusaknya sel dengan adanya kristal es di dalam air intraseluler
- Lyofilisasi, adalah proses pendinginan dibawah titik beku dalam keadaan vakum secara bertingkat. Proses ini dapat digunakan untuk mengawetkan mikroorganisme karena air protoplasma langsung diuapkan tanpa melalui fase cair (sublimasi)

B1.2. Kandungan air (pengeringan) dan PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

- mikroorganisme memerlukan kandungan air bebas tertentu untuk hidupnya,
- biasanya diukur dengan parameter aw (water activity) atau Rh (relative humidity)
 - Mikroorganisme umumnya tumbuh pada aw 0,6-0,998
 - bakteri umumnya pada aw 0,90-0,999.
 - Saccharomyces, Aspergillus glaucus dan jamur benang lain dapat tumbuh pada aw 0,6-0,8.

B1.3. Tekanan osmose dan PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

Dua kejadian penting, yaitu apabila

1. **mikroorganisme diletakkan pada larutan hipertonis, maka selnya akan mengalami plasmolisis** (terkelupasnya membran sitoplasma dari dinding sel akibat mengkerutnya sitoplasma).
2. **mikroorganisme diletakkan pada larutan hipotonis, maka sel mikroorganisme akan mengalami plasmoplisa** (pecahnya sel karena cairan masuk ke dalam sel, sel membengkak dan akhirnya pecah).

Berdasarkan tekanan osmose yang diperlukan

- **mikroorganisme osmofil**, adalah mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kadar gula tinggi,
 - Khamir osmofil mampu tumbuh pada larutan gula dengan konsentrasi lebih dari 65 % wt/wt ($a_w = 0,94$).
- **mikroorganisme halofil**, adalah mikroorganisme yang dapat tumbuh pada kadar garam halogen yang tinggi,
 - Bakteri halofil mempunyai membran purple bilayer, dinding selnya terdiri dari murein, sehingga tahan terhadap ion Natrium
- **mikroorganisme halodurik**, adalah kelompok mikroorganisme yang dapat tahan (tidak mati) tetapi tidak dapat tumbuh pada kadar garam tinggi (mencapai 30%)

B1.4. KEASAMAN atau kadar ion hidrogen (pH) TERHADAP PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

- mikroorganisme umumnya menyukai pH netral (pH 7).
- Beberapa bakteri dapat hidup pada pH tinggi (medium alkalin).
 - Contohnya adalah bakteri nitrat, rhizobium, dan actinomycetes
- beberapa bakteri bersifat toleran terhadap kemasaman,
 - Contohnya Lactobacillus, Acetobacter, dan Sarcina
- Jamur umumnya dapat hidup pada kisaran pH rendah.
 - Apabila mikroorganisme ditanam pada media dengan pH 5 maka pertumbuhan didominasi oleh jamur
 - Apabila pH media 8 maka pertumbuhan didominasi oleh bakteri

B1.5. Berdasarkan pH-nya mikroorganisme dapat dikelompokkan menjadi 3

1. mikroorganisme asidofil, adalah kelompok mikroorganisme yang dapat hidup pada pH 2,0-5,0,
2. mikroorganisme mesofil (neutrofil), adalah kelompok mikroorganisme yang dapat hidup pada pH 5,5-8,0, dan
3. mikroorganisme alkaliofil, adalah kelompok mikroorganisme yang dapat hidup pada pH 8,4-9,5

B1.6. FAKTOR radiasi DAN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

- Radiasi menyebabkan ionisasi molekul-molekul di dalam protoplasma.
- Cahaya umumnya dapat merusak mikroorganisme yang tidak mempunyai pigmen fotosintesis. **cahaya terlihat mata λ -nya 700-400 nm**
- Cahaya mempunyai pengaruh germisida, terutama cahaya bergelombang pendek
- Pengaruh germisida dari sinar disebabkan oleh panas yang ditimbulkannya, misalnya sinar inframerah. Sinar x ($0,005-1,0 \text{ \AA}$), sinar ultra violet ($4000-2950 \text{ \AA}$)
- Sinar radiasi dapat membunuh mikroorganisme tetapi apabila tingkat radiasi yang diterima sel mikroorganisme rendah, maka dapat menyebabkan terjadinya mutasi pada mikroorganisme

B1.7. FAKTOR tegangan muka DAN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

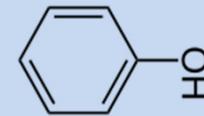
- Umumnya mikroorganisme cocok pada tegangan muka yang relatif tinggi.
- Tegangan muka mempengaruhi cairan sehingga permukaan cairan tersebut menyerupai membran yang elastis
- Protoplasma mikroorganisme terdapat di dalam sel yang dilindungi dinding sel, maka apabila ada perubahan tegangan muka dinding sel akan mempengaruhi pula permukaan protoplasma.
 - Akibat selanjutnya dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan bentuk morfologinya.
 - Zat-zat seperti sabun, deterjen, dan zat-zat pembasah (surfaktan) seperti Tween80 dan Triton A20 dapat mengurangi tegangan muka cairan/larutan

B2. BAHAN KIMIA

- **Antiseptik** = bahan kimia antimikroorganisme yang digunakan untuk mengurangi kemungkinan mikroorganisme dapat hidup
- **Antibiotik** = bahan kimia antimikroorganisme yang dihasilkan oleh mikroorganisme
- **Desinfektan** = bahan kimia antimikroorganisme yang digunakan untuk mengurangi kemungkinan mikroorganisme dapat hidup di permukaan benda
- **Pestisida** = bahan kimia yang digunakan untuk membunuh mikroorganisme pengganggu
- **Pengawet** = bahan kimia antimikroorganisme yang digunakan untuk mengurangi kerusakan oleh mikroorganisme

FAKTOR KIMIA PENGHAMBAT PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

1. Logam berat (sublimat = merkuri klorida = HgCl_2 , AgNO_3)
2. Fenol (karbol) $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH} \pm 15\%$, kresol (kreolin), benzol
3. Alkohol $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}\text{OH}$
 - ethanol (60–90%), ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)
 - 1-propanol (60–70%) $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
 - 2-propanol/isopropanol (70–80%) $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$.
 - waktu pakai 10 menit, tidak membunuh spora, konsentrasi <50 & >90 kurang efektif
4. Aldehid (formalin CH_2O),



FAKTOR KIMIA PENGHAMBAT PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

5. Yodium (dalam alkohol 2-5%),
6. Klor (deodoran),
7. Peroksida (H_2O_2),
8. deterjen (sabun + heksakloreten)
9. Sodium hypochlorite ($NaOCl$)=> desinfektan
>1%, pemutih >5,25%
10. Sodium bikarbonat ($NaHCO_3$) terutama jamur
11. Antibiotik (penisilin, streptomisin, tetramisin) =>
berpengaruh thd permeabilitas membran sel,
menghambat sintesis protein)

LOGAM BERAT

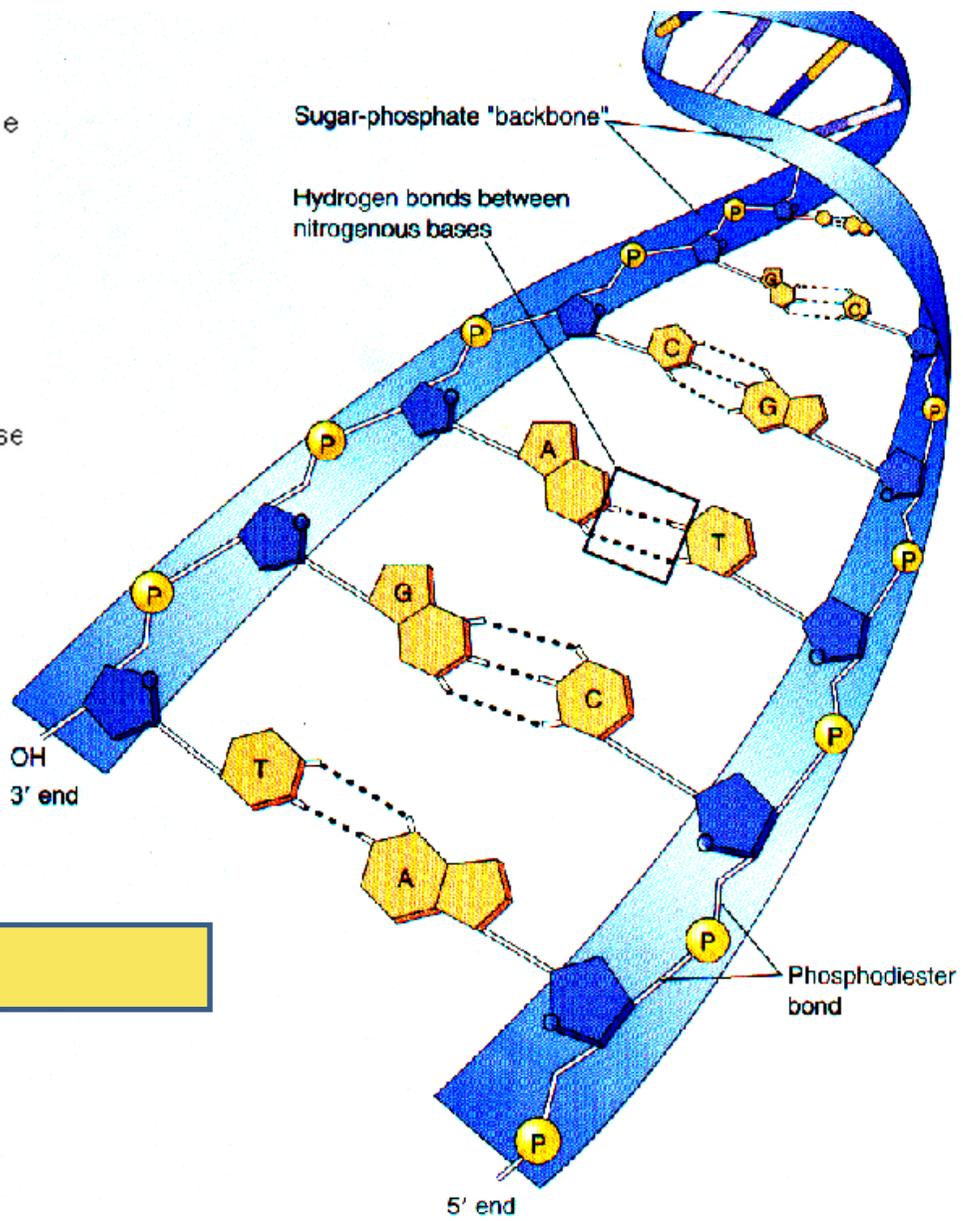
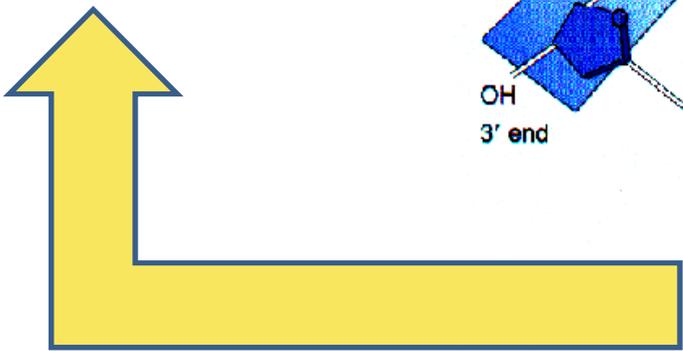
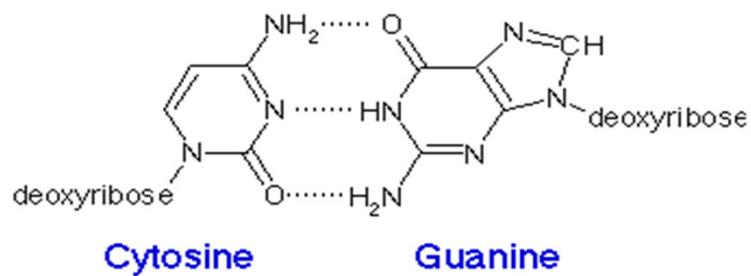
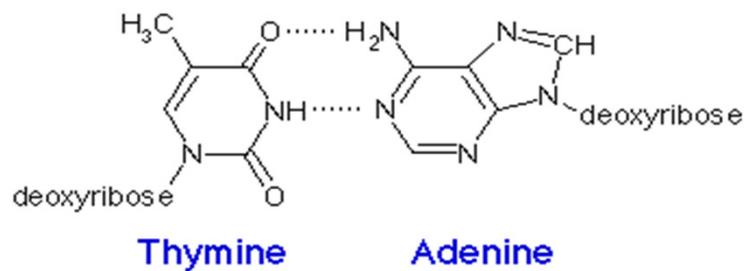
- **Logam berat esensial**, yakni logam dalam jumlah tertentu yang sangat dibutuhkan oleh mikroorganisme. Dalam jumlah yang berlebihan, logam tersebut dapat menimbulkan efek toksik. Contohnya adalah Zn, Cu, Fe, Co, dan Mn.
- **Logam berat tidak esensial**, yakni logam yang keberadaannya dalam tubuh masih belum diketahui manfaatnya, bahkan bersifat toksik. Contohnya Hg, Cd, Pb, dan Cr.
- Ion logam dapat berikatan atau membentuk kompleks inaktif dengan elektron yang tak dapat digunakan pada sisi aktif dari berbagai enzim, pengambilan substrat, dan proses metabolik lainnya

GENETIKA MIKROORGANISME

- Kromosom yang kita kenal, sesungguhnya adalah rantai DNA (*dioxiribo nucleic acid* = asam dioksiribo nukleat)
- DNA merupakan bahan genetik yang menyimpan informasi sifat-sifat yang menurun ke generasi berikutnya dan informasi ini dapat dipindahkan
- Avery (1941) mampu mengubah bakteri *Pneumococcus* yang tidak beracun menjadi bakteri yang menghasilkan toksin (racun) dengan cara menambah ekstrak DNA dari bakteri beracun
 - Oleh karena itu, DNA bakteri yang beracun tersebut dapat dipindahkan (ditransformasikan) sifat-sifatnya kepada DNA bakteri generasi baru

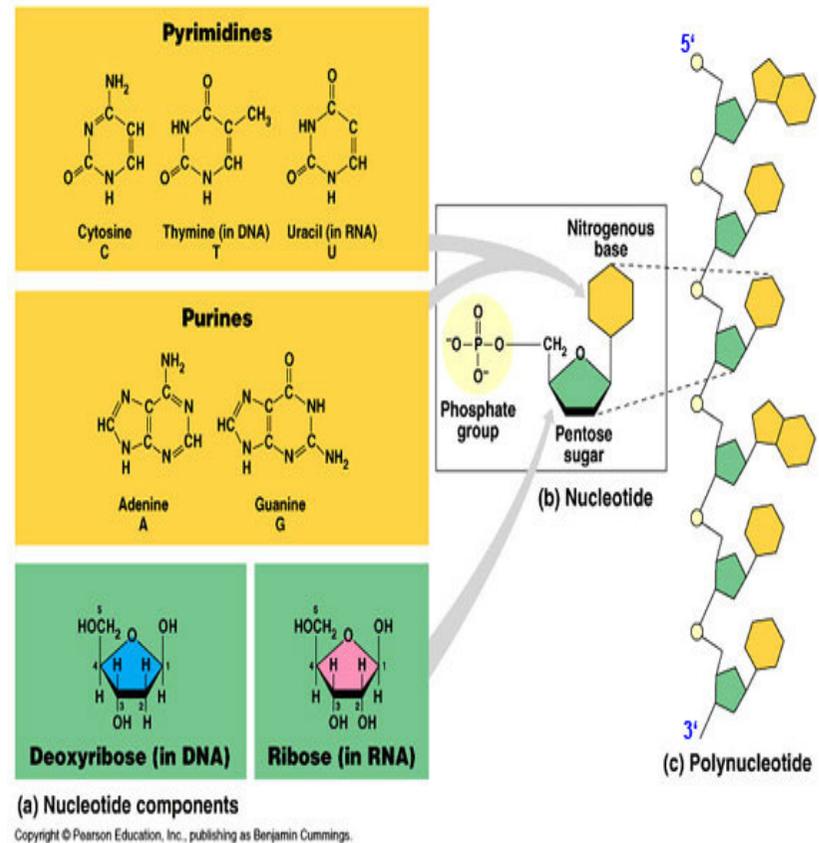
KROMOSOM





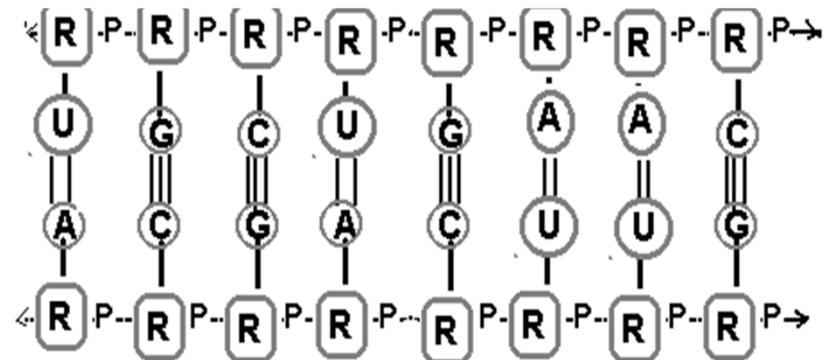
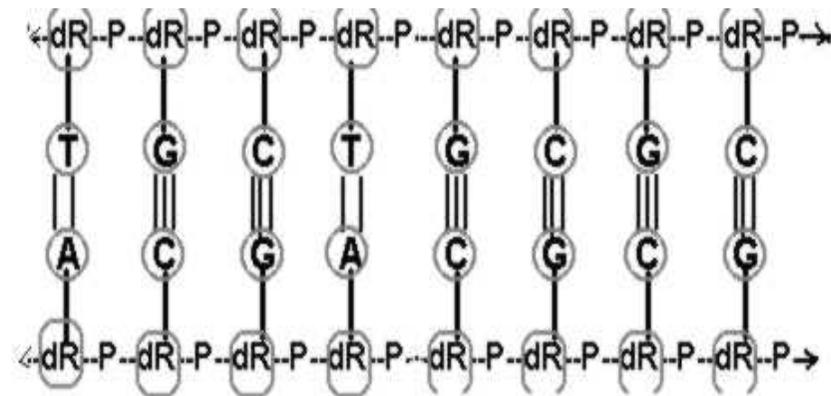
DNA & RNA

- Pembawa sifat mikroorganisme: DNA dan RNA
- DNA merupakan rangkaian **gula dioksiribosa** yang mengandung dua basa yaitu **purin** dan **pirimidin**
- RNA merupakan rangkaian **gula ribosa** yang mengandung dua basa yaitu **purin** dan **pirimidin**
- Basa pirimidin terdiri dari sitosin [C], timin [T], dan urasil (U)
- Basa purin terdiri dari adenin [A] dan guanin [G]



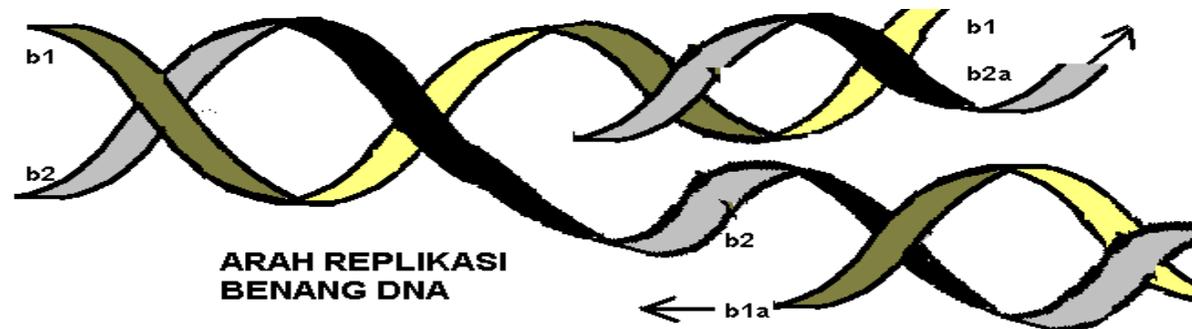
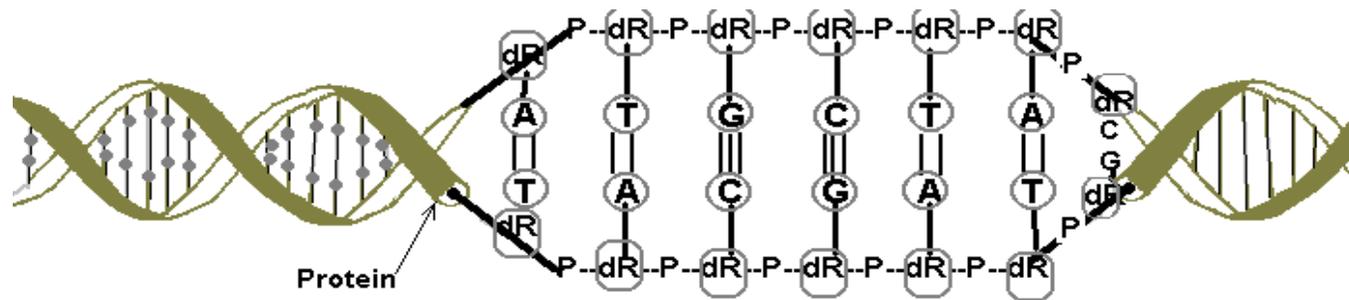
STRUKTUR DNA & RNA

- DNA merupakan rangkaian basa-basa purin dan pirimidin yang sangat panjang. Dioksiribo nukleat (dR) yang berdampingan diikat oleh fosfoester (P) pada atom C 3-5 (anti paralel) dan basa purin maupun pirimidin pada C pertama
- Struktur RNA (*ribonucleic acid*) sebenarnya sama dengan DNA, tetapi RNA mempunyai pirimidin urasil (U) di tempat timin (T) dan mengikat gula ribosa



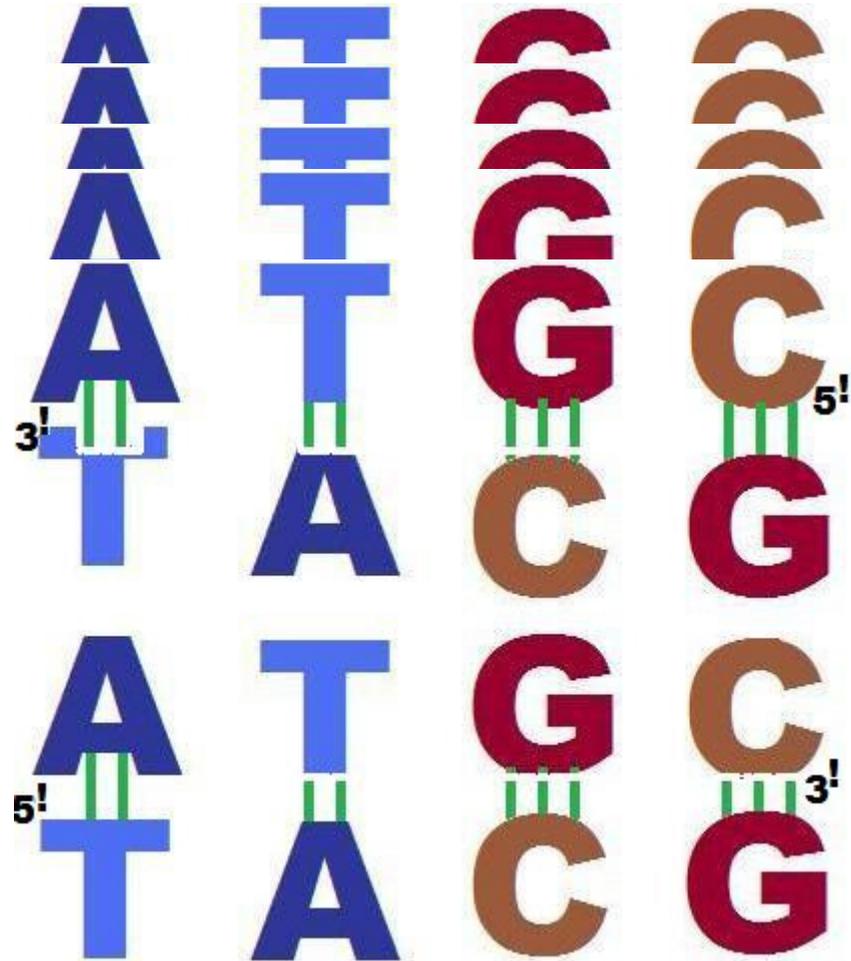
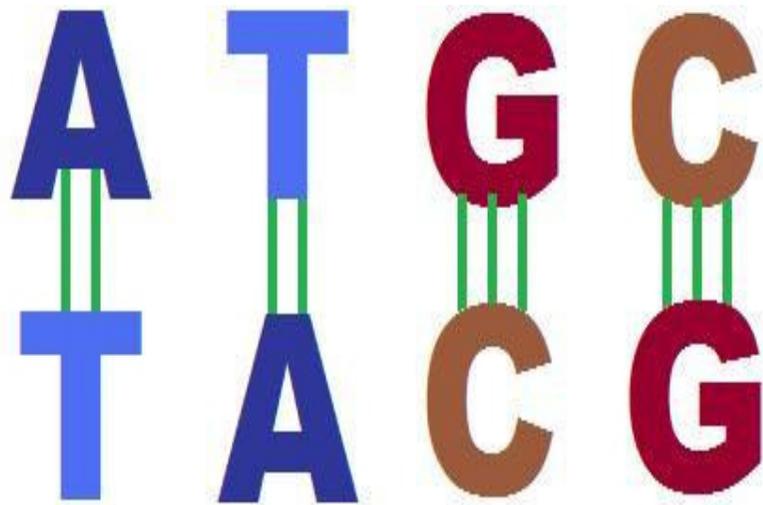
RANGKAIAN DNA

- DNA di dalam sel mikroorganisme terdapat sebagai benang ganda yang terpilin dalam konfigurasi heliks



REPLIKASI DNA

- Contoh potongan DNA



kodon dan asam amino yang disandi

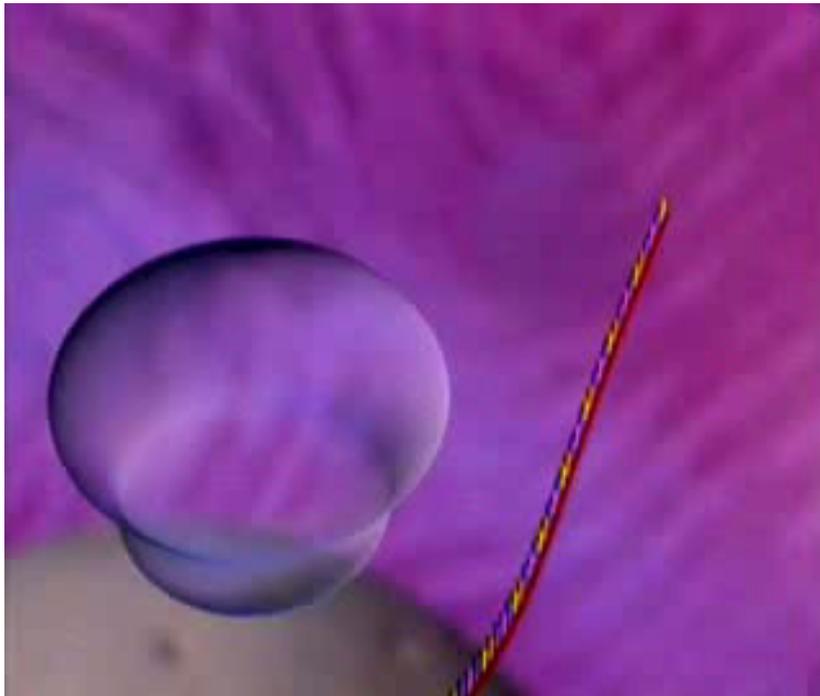
Basa	U	C	A	G
U	UUU fenilalanin UUC fenilalanin UUA leusin UUG leusin	UCU serin UCC serin UCA serin UCG serin	UAU tirosin UAC tirosin UAA * UAG *	UGU sistein UGC sistein UGA * UGG triptofan
C	CUU leusin CUC leusin CUA leusin CUG leusin	CCU prolin CCC prolin CCA prolin CCG prolin	CAU histidin CAC histidin CAA glutamin CAG glutamin	CGU arginin CGC arginin CGA arginin CGG arginin
A	AUU isoleusin AUC isoleusin AUA isoleusin AUG mesonin	ACU treonin ACC treonin ACA treonin ACG treonin	AAU asparagin AAC asparagin AAA lisin AAG lisin	AGU serin AGC serin AGA arginin AGG arginin
G	GUU valin GUC valin GUA valin GUG valin	GCU alanin GCC alanin GCA alanin GCG alanin	GAU aspartat GAC aspartat GAA glutamat GAG glutamat	GGU glisin GGC glisin GGA glisin GGG glisin

PENCETAKAN PROTEIN

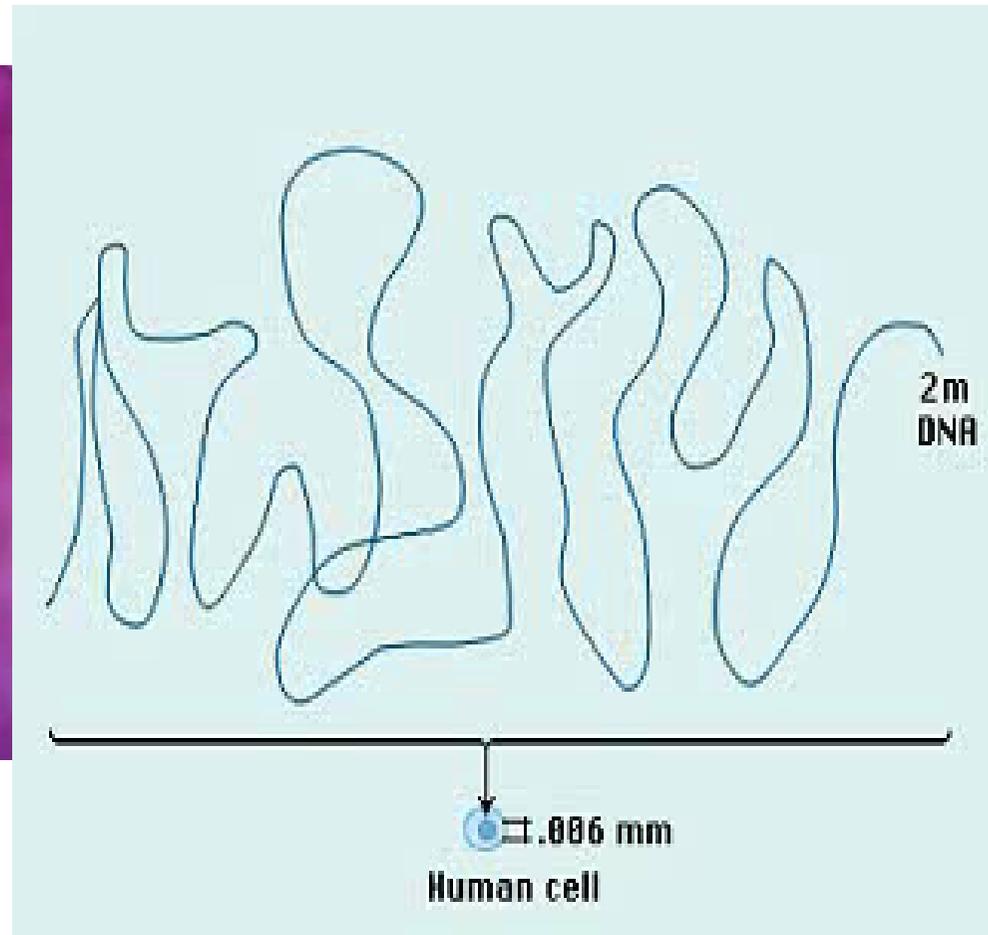
1. Struktur RNA Asli
2. Struktur RNA tersisipi basa purin lain
3. Struktur RNA ada yang hilang basa purinnya



PENCETAKAN



PENCETAKAN PROTEIN



RANGKAIAN DNA