



[www.esaunggul.ac.id](http://www.esaunggul.ac.id)

# MIKROBIOLOGI INDUSTRI

## IBL 362

*By Seprianto S.Pi, M.Si*



## Pertemuan 3

# KINETIKA PERTUMBUHAN MIKROBA

# Tujuan Perkuliahan

- Mahasiswa dapat Menjelaskan kinetika pertumbuhan Bakteri
- Mahasiswa dapat menjelaskan Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dalam kondisi terkontrol
- Mahasiswa dapat menjelaskan media yang digunakan dalam pertumbuhan mikroba (bakteri)
- Mahasiswa menjelaskan metoda dalam pengukuran pertumbuhan bakteri

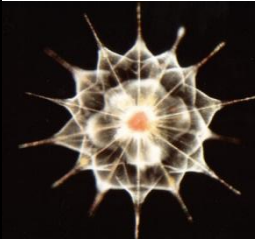
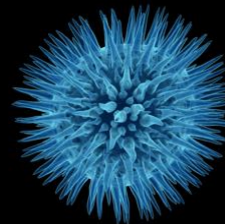
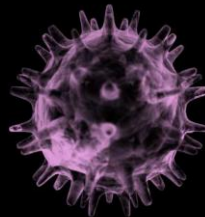
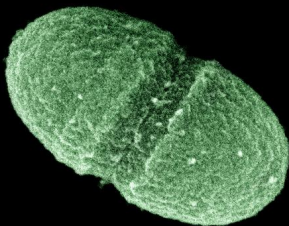
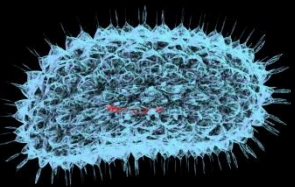
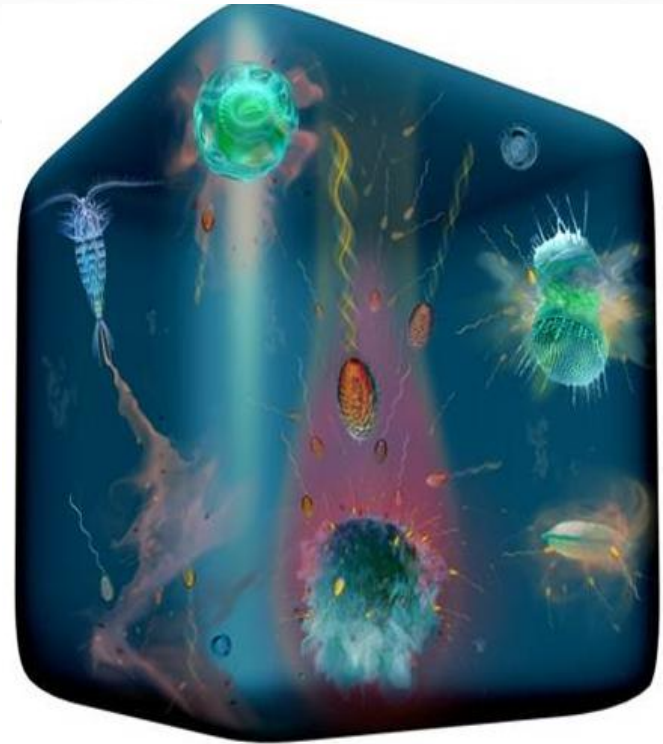
**Kinetika ??**



**Pertumbuhan ??**

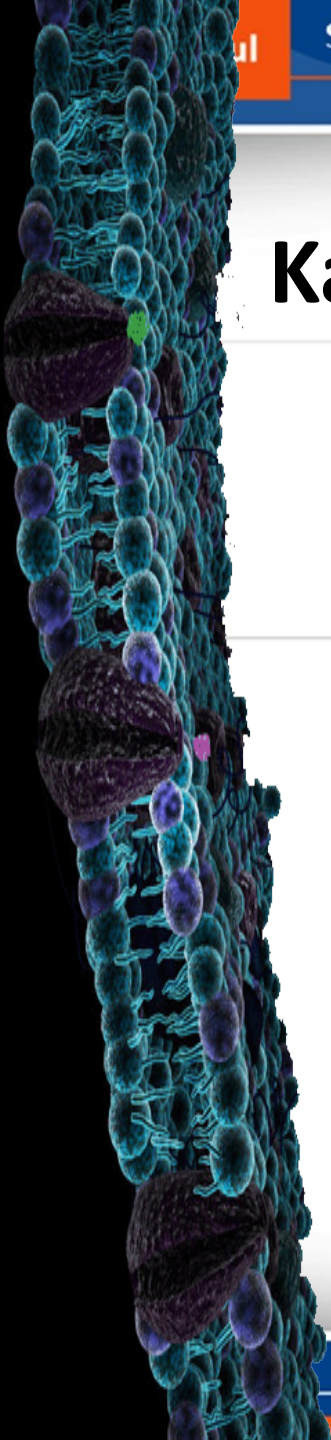


**Mikroba ??**



# Karakteristik pertumbuhan mikroba

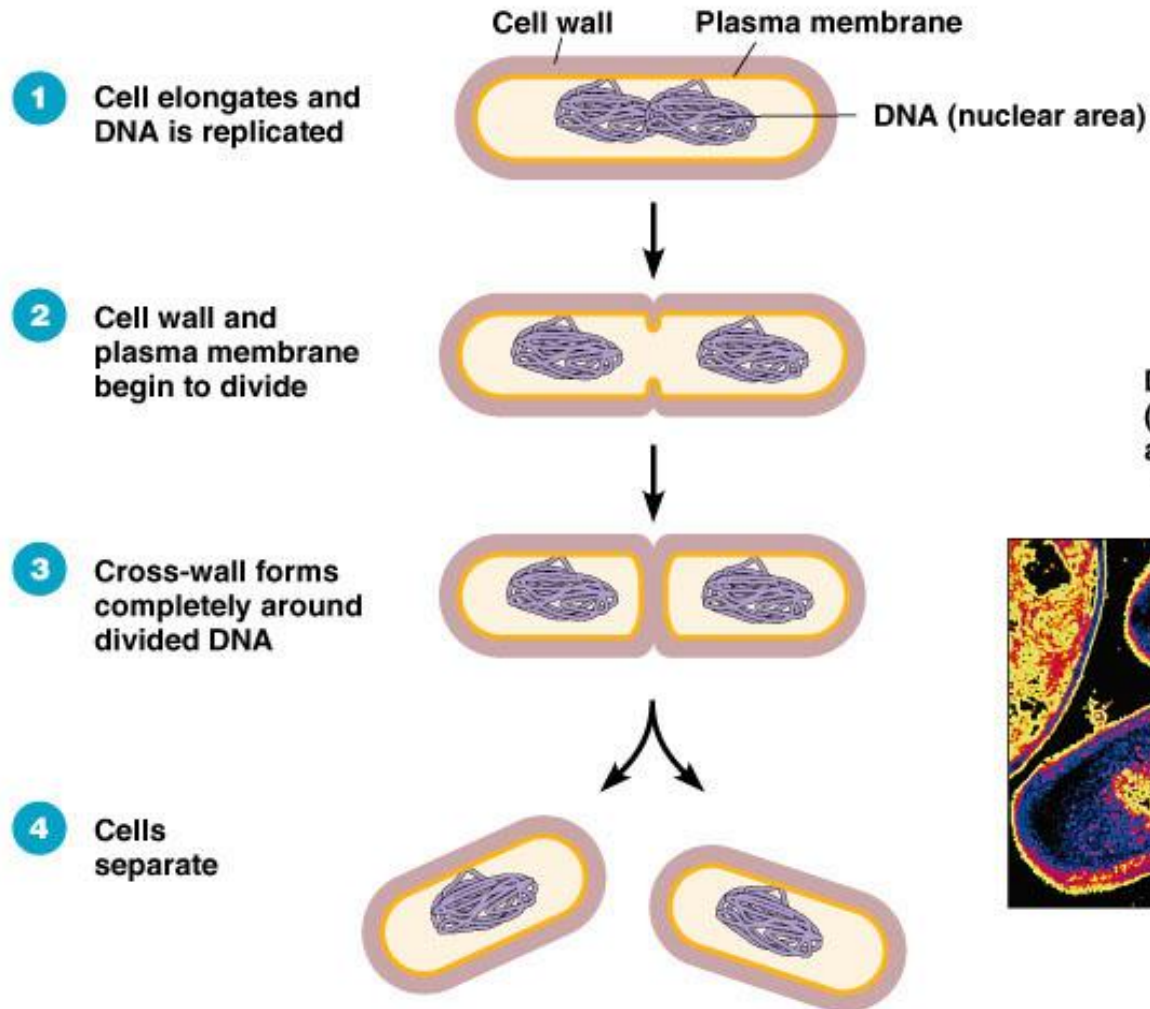
- Pertumbuhan mikroba merupakan pertambahan jumlah sel mikroba
- Pertumbuhan mikroba berlangsung selama nutrisi masih cukup tersedia
- Pertumbuhan mikroba dapat diukur, dengan melihat kenaikan biomassa atau jumlah sel
- Selama pertumbuhan, mikroba menghasilkan metabolit primer/sekunder berupa produk



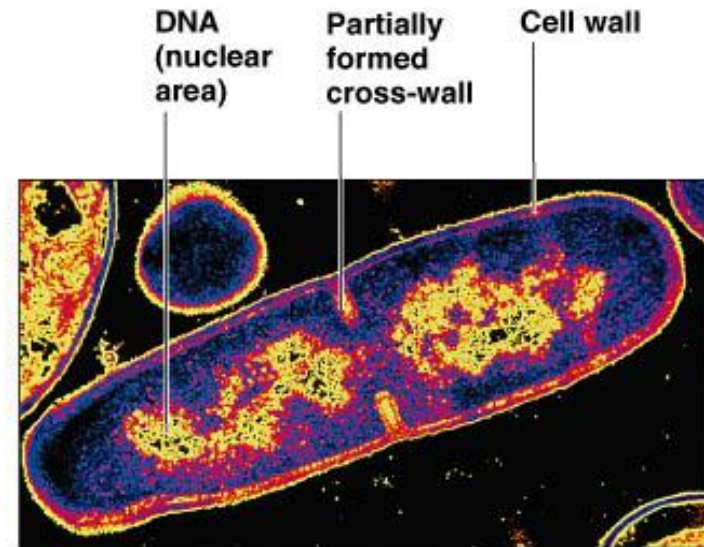
# Waktu Generasi

- Adalah : Selang waktu yang dibutuhkan sel untuk membelah diri
- Tiap spesies bakteri memiliki waktu generasi yang berbeda-beda,
- Contoh: *Escherichia coli*, bakteri umum yang dijumpai di saluran pencernaan dan di tempat lain, memiliki waktu generasi 15-20 menit

# Pembelahan Biner Sel Bakteri



**(a)** A diagram of the sequence of cell division.



**(b)** A thin section of a cell of *Bacillus licheniformis* starting to divide.

## Tabel pembelahan biner bakteri setiap 15 menit

0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'
1 sel	2 sel	4 sel	8 sel	16 sel	32 sel	64 sel	128 sel	256 sel	512 sel
$2^0$	$2^1$	$2^2$	$2^3$	$2^4$	$2^5$	$2^6$	$2^7$	$2^8$	$2^9$

Hubungan antara pertambahan sel dengan waktu adalah berbentuk geometrik eksponensial dengan rumus  $2^n$

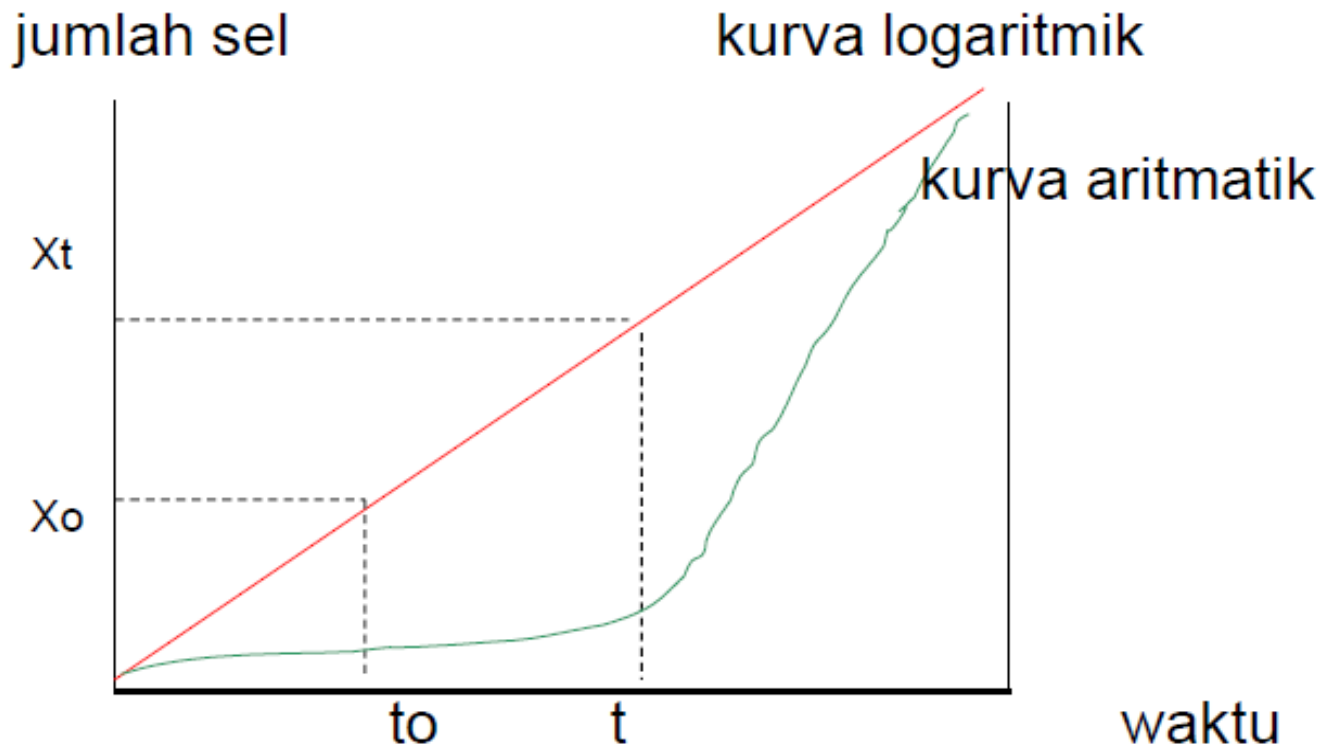


# Laju pertumbuhan mikroba dan waktu generasi



- 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

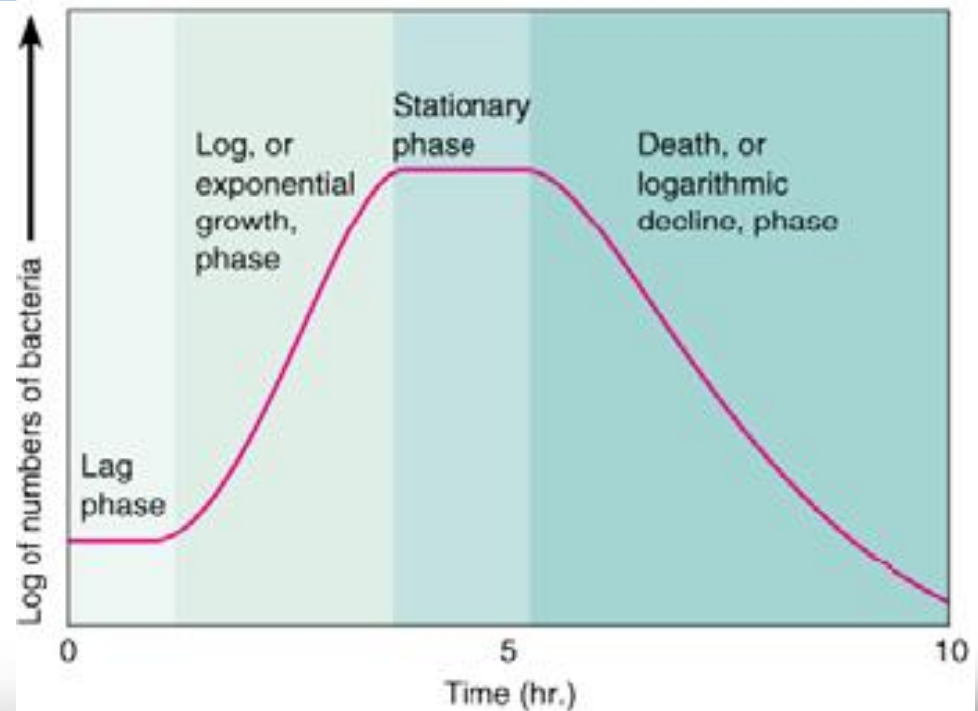


# Kurva pertumbuhan bakteri

- Kurva tumbuh bakteri dibuat untuk menggambarkan karakteristik pertumbuhan bakteri dalam suatu medium

Ada 4 fase, yaitu :

1. Fase lag
2. Fase log(eksponensial)
3. Fase stasioner
4. Fase kematian



# Kurva pertumbuhan bakteri

- **Fase Lag**

Pada fase tidak terjadi penambahan jumlah sel, tetapi aktivitas metabolisme sedang berlangsung untuk persiapan pembelahan sel. Disebut juga sebagai fase adaptasi (penyesuaian)

- **Fase Log (Eksponensial)**

Pola pertumbuhan yang seimbang dan cepat. Sel-sel bakteri membelah secara teratur dengan laju yang konstan, tergantung pada komposisi medium kultur dan kondisi inkubasi sampai nutrisi habis.

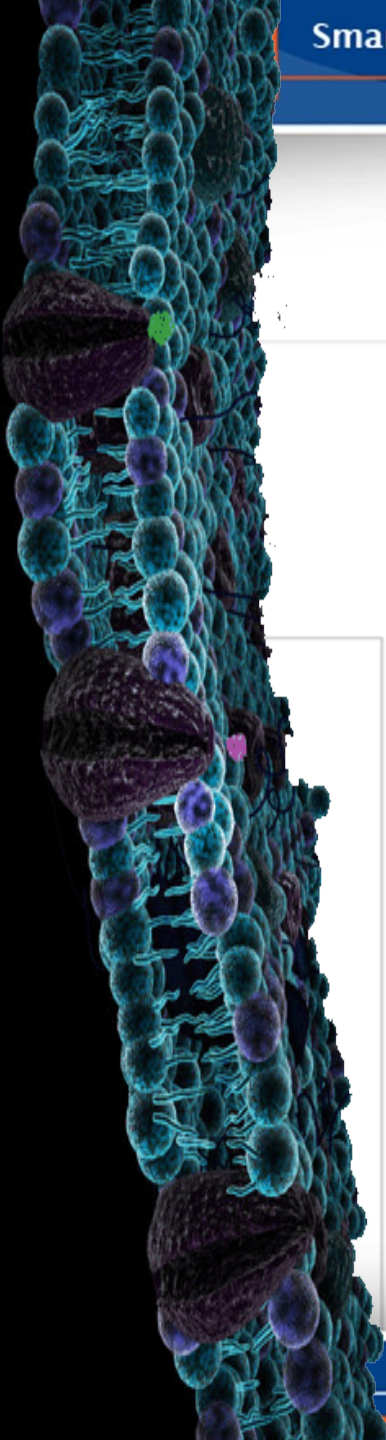
# Kurva pertumbuhan bakteri

- **Fase stasioner**

Terjadi penumpukan racun akibat metabolisme sel dan kandungan nutrisi mulai habis, akibatnya terjadi kompetisi nutrisi sehingga beberapa sel mati sedangkan yang lainnya tetap hidup. Pada fase ini bakteri masih melakukan aktivitas memproduksi metabolit sekunder seperti antibiotik.

- **Fase Kematian**

Grafik menunjukkan penurunan secara tajam karena merupakan akhir dari suatu individu yang kembali ke titik awal.



# Pertumbuhan mikroba dipengaruhi oleh

## FAKTOR FISIK

- Temperatur
- pH
- Tekanan osmotik
- Oksigen

## Faktor Kimia

- Karbon
- Nitrogen
- Sulfur
- Posfor

# Temperatur

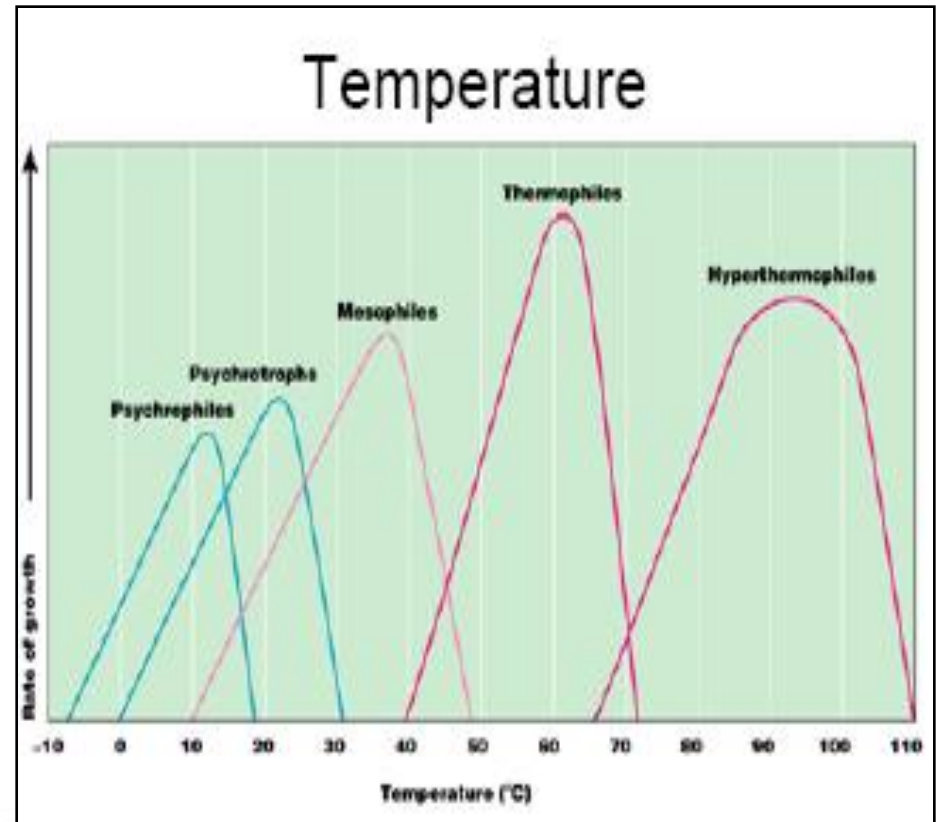
- Salah satu faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganismenya.

Suhu dapat mempengaruhi mikroba dalam dua cara yang berlawanan :

- 1) Apabila suhu naik maka kecepatan metabolisme naik dan pertumbuhan dipercepat. Sebaliknya apabila suhu turun, maka kecepatan metabolisme akan menurun dan pertumbuhan diperlambat.
- 2) Apabila suhu naik atau turun secara drastis, tingkat pertumbuhan akan terhenti, komponen sel menjadi tidak aktif dan rusak, sehingga sel-sel menjadi mati

# Temperatur optimum untuk pertumbuhan mikroba

- Psikropiles (dingin) : 0 C - 20 C,  
optimum 15 C
- Mesopiles (moderat) :  
20 C - 40 C
- Termopiles (panas) :  
40 C - 100 C





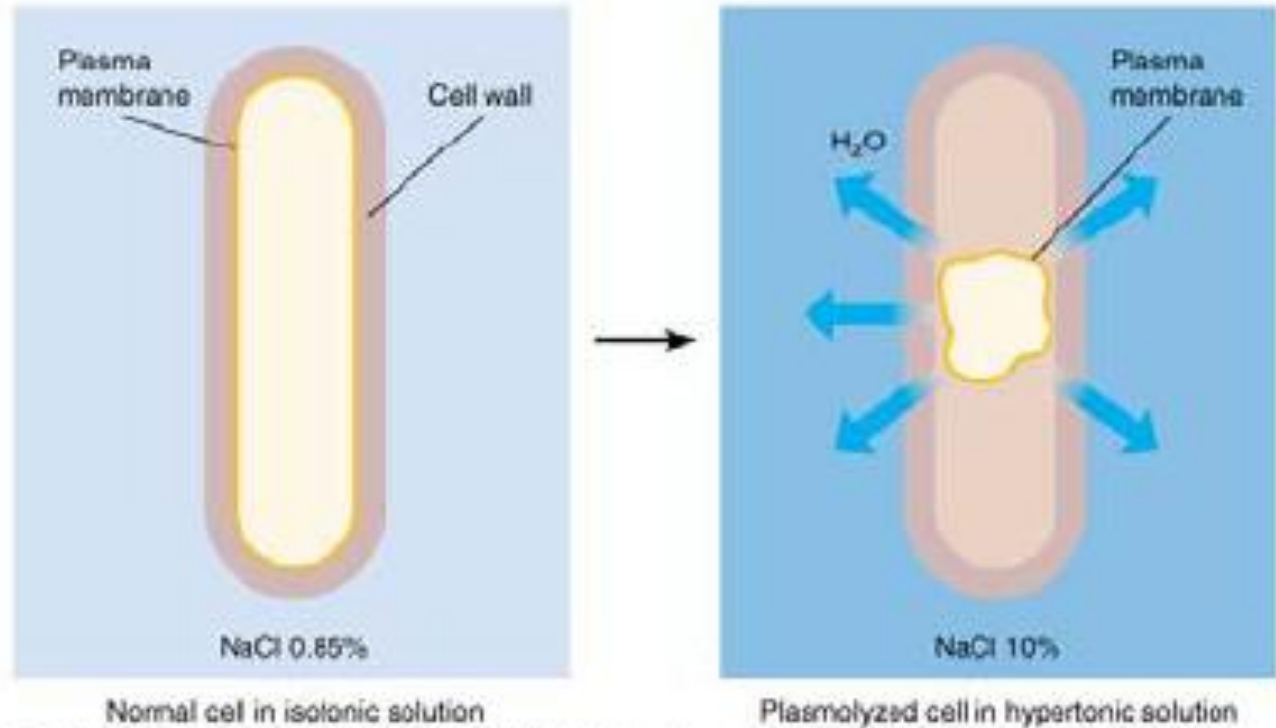
# pH

- pH berpengaruh terhadap sel dengan mempengaruhi metabolisme
- Umumnya bakteri tumbuh pada pH 6,5 - pH 7,5
- Sedikit bakteri yang hidup pada pH di bawah 4,0

# Tekanan Osmotik

- Keberadaan mikroorganisma di lingkungan dapat dipengaruhi oleh kepekatan suspensi/cairan di lingkungan.
- Bila kepekatan suspensi di lingkungan tinggi maka isi sel akan ke luar. Sebaliknya kepekatan suspensi di lingkungan rendah maka akan terjadi pergerakan massa cair ke dalam sel

- Tonisitas
  - Isotonik (0,85% NaCl)
  - hipertonik
  - hipotonik




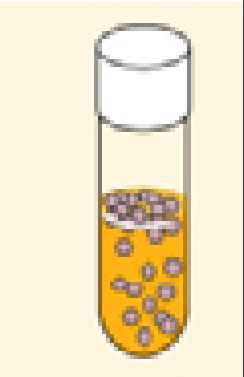

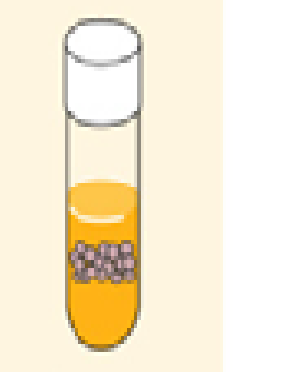
Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

# Oksigen

- Mikroorganismen memiliki karakteristik sendiri-sendiri di dalam kebutuhannya akan oksigen.
- Berdasarkan kebutuhan oksigen, mikroorganismen dibagi dalam tiga kelompok :
  1. **Aerobik** : hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas.
  2. **Anaerob** : hanya dapat tumbuh apabila tidak ada oksigen bebas.
  3. **Anaerob fakultatif** : dapat tumbuh baik dengan atau tanpa oksigen bebas
  4. **Mikroaerofilik** : dapat tumbuh apabila ada oksigen dalam jumlah kecil



# Oksigen

obligate aerobe	Faultative anaerobe	Obligat anaerobe	Microaerophile
			

# FAKTOR KIMIA YANG MEMPENGARUHI PERTUMBUHAN

- **Karbon :**
  - Sumber energi
  - Struktur organik molekul
  - Bakteri yang bersifat kemoheterotrop menggunakan karbon organik
  - Bakteri autotrop menggunakan CO<sub>2</sub>

# FAKTOR KIMIA YANG MEMPENGARUHI PERTUMBUHAN

- **Nitrogen :**

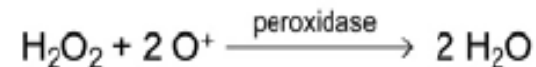
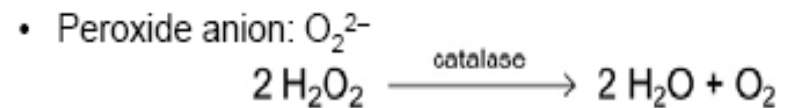
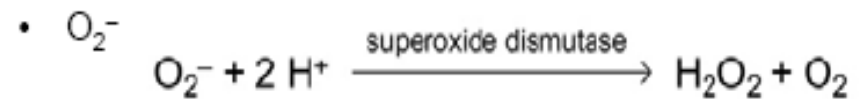
- Terdapat di dalam asam amino dan protein
- Umumnya bakteri berperan sebagai dekomposer protein
- Beberapa bakteri menggunakan  $\text{NH}_4^+$  atau  $\text{NO}_3^-$
- Hanya sedikit bakteri yang menggunakan  $\text{N}_2$  untuk fiksasi nitrogen



# Oksigen dapat bersifat letal untuk beberapa mikroorganisme

- Harus dinetralisir terlebih dahulu oleh enzim :

- Superoksida dismutase
- Katalase
- Peroksidase



- Jika mikroorganisme tidak menghasilkan enzim tersebut maka organisme tersebut bersifat anaerob.



# Metode mengukur pertumbuhan bakteri

1. Mengukur banyaknya sel
  - a) Perhitungan mikroskopis
  - b) Perhitungan dengan pupukan cawan petri
  - c) Culture slide
  - d) Coloni counter
  - e) Nefolometri
  
2. Mengukur Massa Sel : Metode Langsung
  - a) Bobot Sel Kering
  - b) Turbiditas

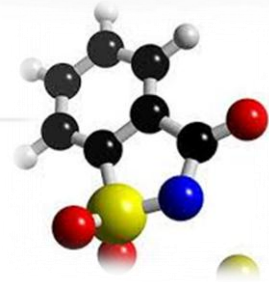


# Metode mengukur pertumbuhan bakteri

3. Estimasi Massa Sel Metode Tidak Langsung
  - a) Komponen Sel
  - b) Pengambilan Nutrien
  - c) Pembentukan Produk
  - d) Evolusi Panas
  - e) Volume Sel Terkemas
  - f) Viskositas



# *Perhitungan Mikroskopis*



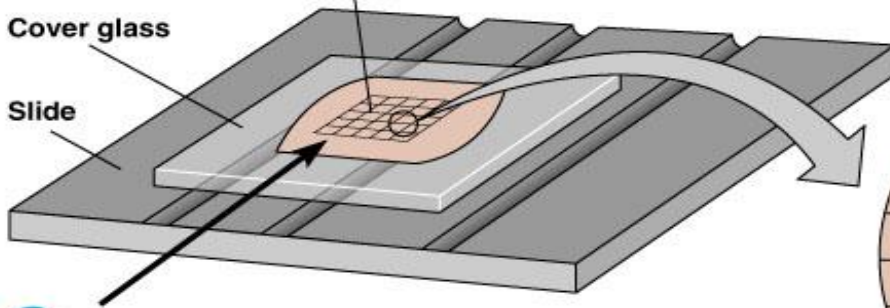
- Dengan bantuan :
  - Slide Petroff Housser
  - Hemocytometer
- Sel hidup Vs sel mati dibedakan dengan pewarnaan metilen biru atau tripen biru yang mewarnai sel mati.
- Kelemahan :
  - ukuran bakteri sangat kecil
  - bentuk sel khamir dan kapang bukan sel mandiri (utuh)

# Menghitung langsung

Grid with 25 large squares

Cover glass

Slide



- 1 Bacterial suspension is added here and fills the shallow volume over the squares by capillary action.

Bacterial suspension

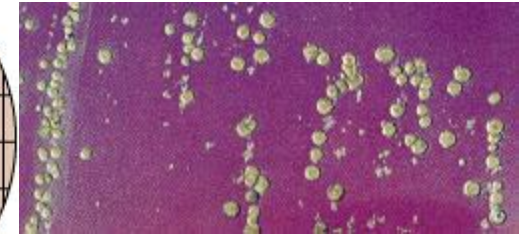
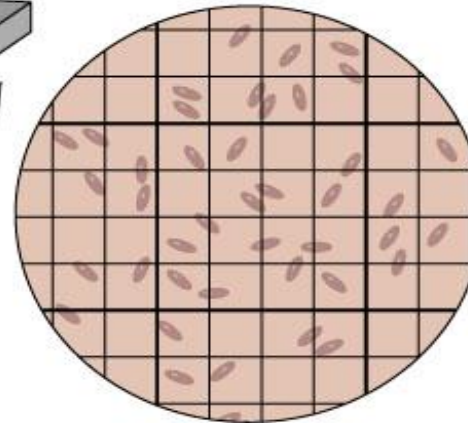
Cover glass

Slide



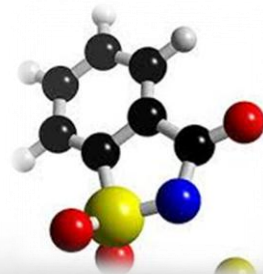
Location of squares

- 2 Cross section of a cell counter. The depth under the cover glass is known, and the area of the squares is known, so the volume of the bacterial suspension over the squares can be calculated (depth  $\times$  area).

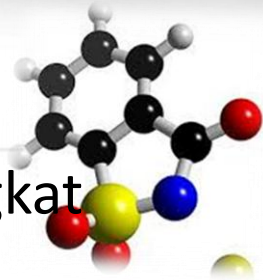


- 3 Microscopic count: All cells in several large squares are counted, and the numbers are averaged. The large square shown here has 14 bacterial cells.

- 4 The volume of fluid over the large square is  $1/1,250,000$  of a milliliter. If it contains 14 cells, as shown here, then there are 14 times 1,250,000 (17,500,000) cells in a milliliter.

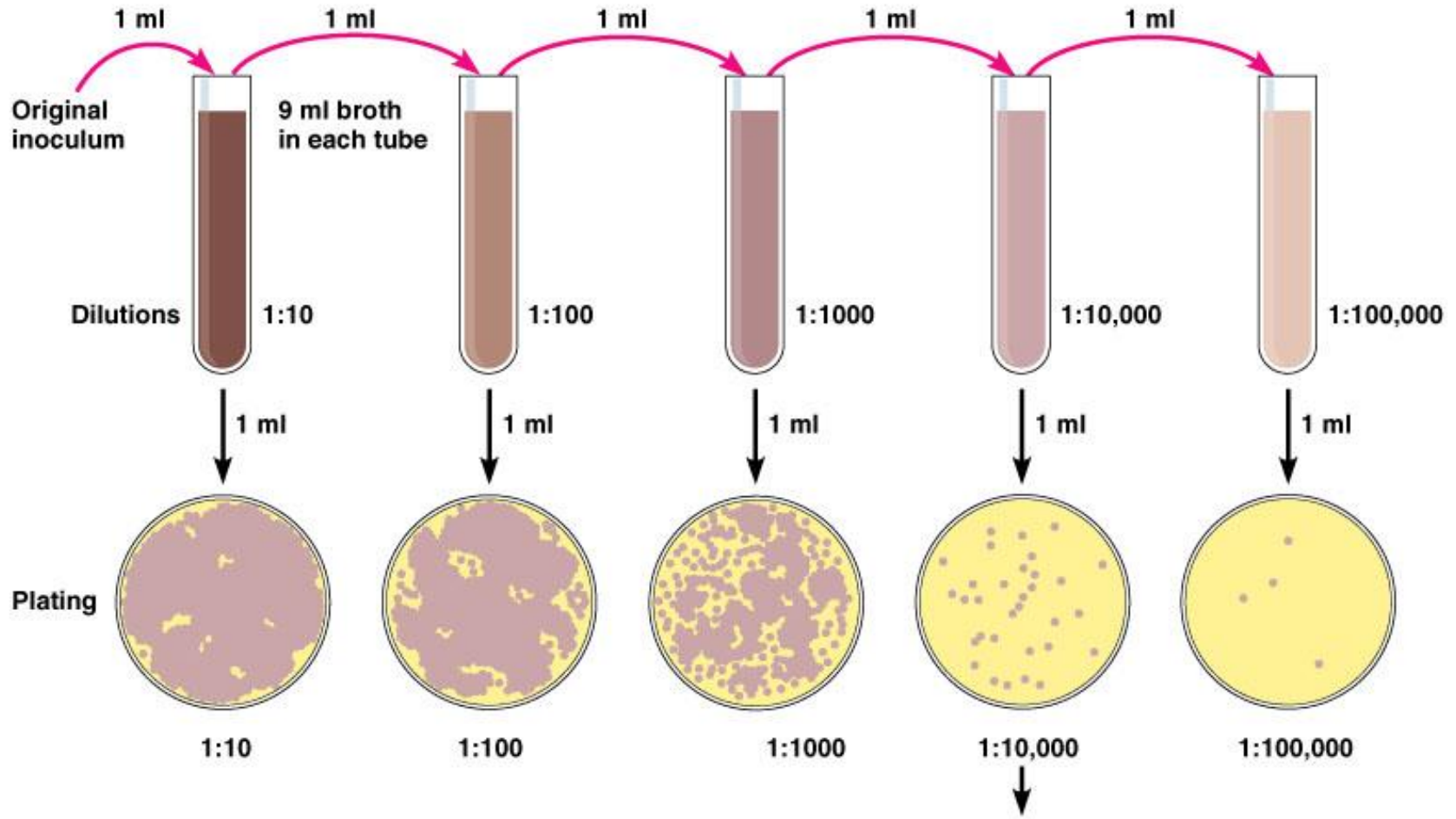
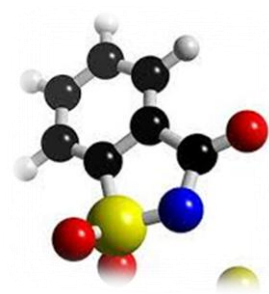


# Perhitungan dengan Pupuk Cawan Petri



- Inokulasi suspensi mikroba yang diencerkan secara bertingkat
- Disebarkan dengan batang gelas steril pada permukaan
- Inkubasi 24 jam (>) sampai timbul koloni yang terpisah  
CFU (Cel Forming Unit)
- CFU dapat berasal dari :
  - 1 sel
  - miselium
  - pseudomiselium
- Baik untuk bakteri dan khamir, kurang baik untuk kapang
- Pada kondisi tertentu khamir dapat membentuk miselium atau pseudomiselium

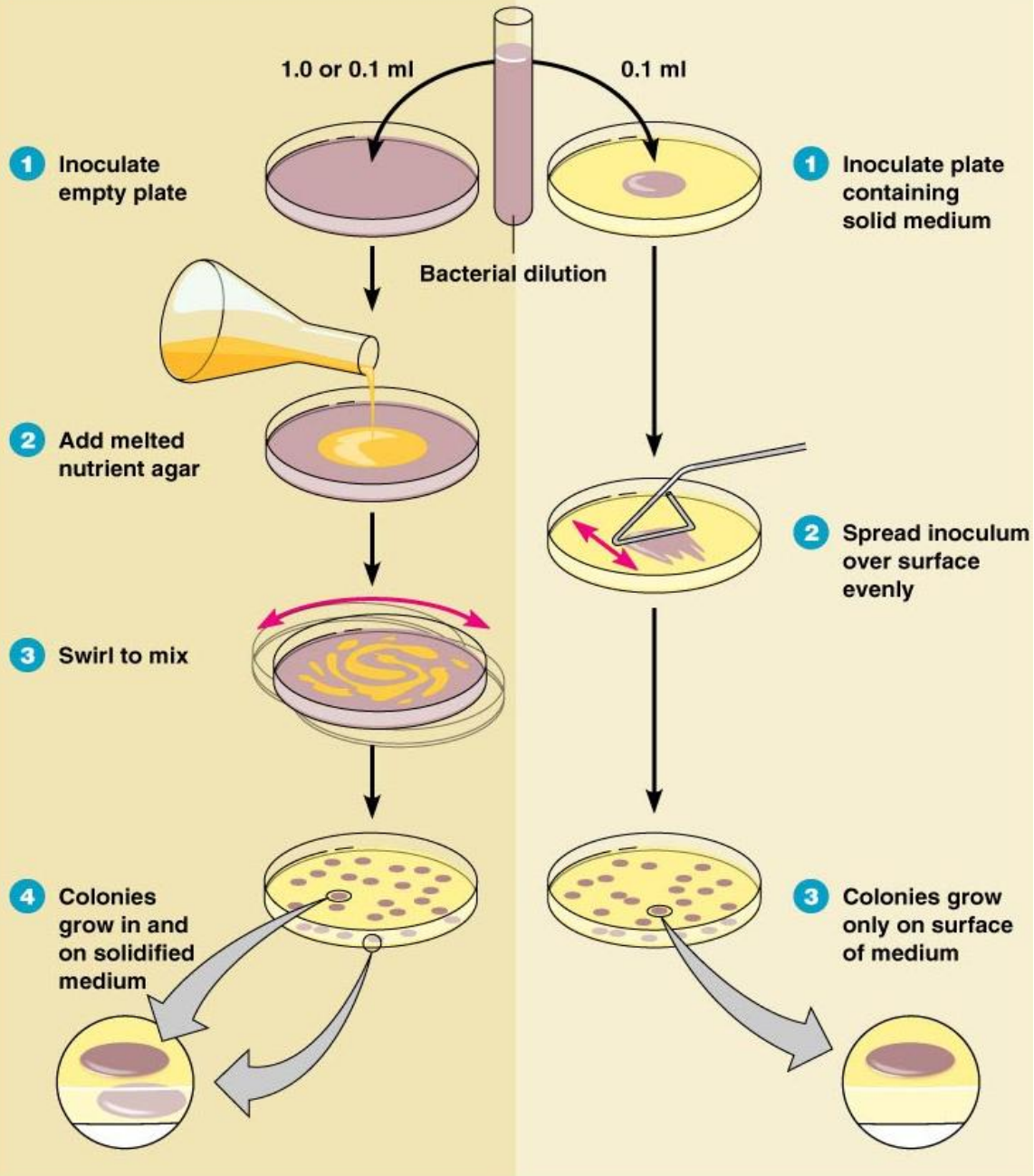
# Metode *Plate Count* memerlukan Pengenceran (*Dilution series*) untuk memperoleh koloni



**Calculation: Number of colonies on plate  $\times$  reciprocal of dilution of sample = number of bacteria/ml**  
(For example, if 32 colonies are on a plate of  $1/10,000$  dilution, then the count is  $32 \times 10,000 = 320,000/\text{ml}$  in sample.)

**(a) The pour plate method**

**(b) The spread plate method**

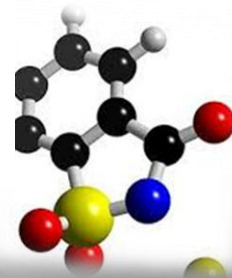


# Kultur Slide

- Modifikasi pupukan cawan petri
- Cara :
  - ✓ Medium agar ditempatkan dalam gelas kecil dan dipasang pada slide mikroskop
  - ✓ Inokulasikan dengan suspensi mikroba
  - ✓ Slide diinkubasi
  - ✓ Setelah tumbuh 2-3 x massa mengganda, dilihat di bawah mikroskop

$$\text{Sel hidup} = \frac{\Sigma \text{mikrokoloni}}{\Sigma \text{koloni} + \Sigma \text{sel yang tidak membelah}}$$

- Kelemahan = cawan petri , tapi lebih cepat karena waktu yang dibutuhkan 3-4 jam saja.



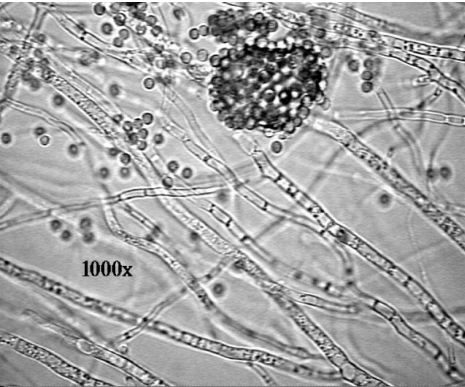


# *Nefolometri*

- Menghitung jumlah sel atau banyaknya partikel
- Menggunakan suatu sumber cahaya yang diarahkan tegak lurus terhadap tabung foto
- Bila cahaya menembus sampel cair maka tabung foto mengukur cahaya yang disebarakan
- Berguna untuk sampel cair (sel yang dicairkan) atau suspensi partikel.



# Bobot sel kering



Sampel berupa kultur broth penuh



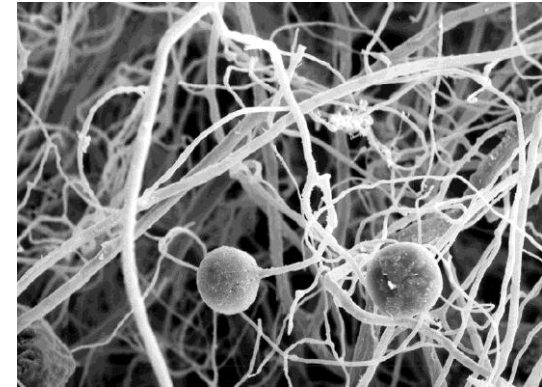
Disentrifusi



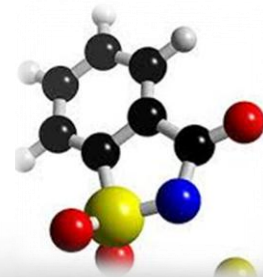
Dicuci dengan buffer atau air



Dikeringkan pada 80° C, 24 jam atau 110° C/8 jam

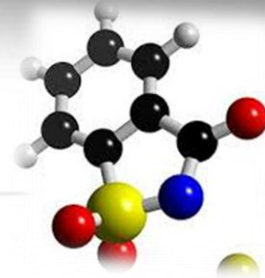


- Digunakan untuk sel yang ditumbuhkan pada medium bebas solid
- Tidak baik untuk sel yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung  $\text{CaCO}_3$ , padatan selulosa molases, cairan corn steep, selulosa, tepung kedele.



# Kekeruhan/Turbiditas

- Spektrofotometer digunakan untuk mengukur kekeruhan
- Absorbansi/Densitas optis (Optical Density/OD) : ukuran kuantitatif yang diekspresikan sebagai rasio logaritmik antara radiasi yang jatuh ke suatu bahan dan yang ditransmisikan menembus bahan.



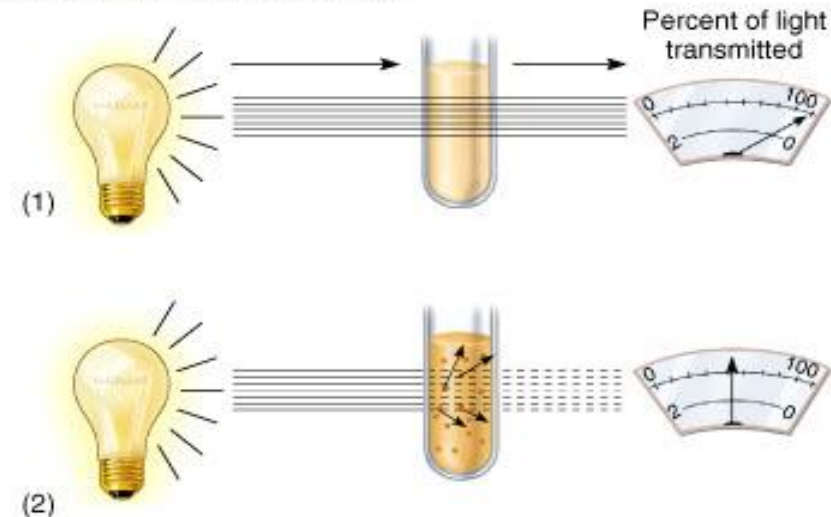
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



(a)

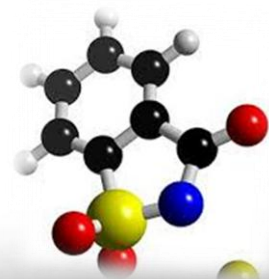


(b)



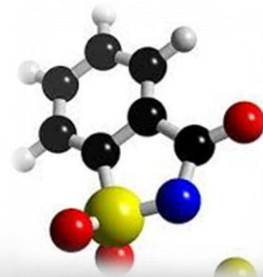
# Komponen sel

- Komponen sel yang diukur : protein, RNA, DNA
- Proporsinya berubah terhadap waktu  $\Rightarrow$  perlu perhatian dalam menerjemahkan hasil
- Pada fase log  $\Rightarrow$  komponen sel tetap
- Pada awal dan akhir siklus pertumbuhan komposisi sel berubah
- Analisis kadar protein : metode buret, folin, Kjeldhal nitrogen, total analisis asam amino.
- Dapat juga dengan analisis elemental sel (C, H, O dan N).



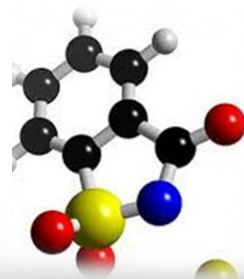
# Volume sel terkemas

- Cara : seluruh broth sampel disentrifus pada kondisi putaran (rpm) dan waktu standar di dalam sebuah tabung berskala yang meruncing
- Volume yang diisi oleh padatan = massa sel



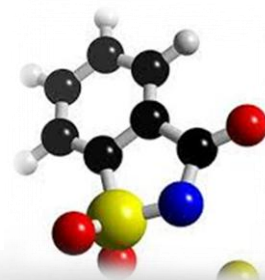
# Viskositas

- Selama fermentasi terjadi peningkatan viskositas pada pertumbuhan miselia atau polisakarida
- Jika sumber C adalah polimer (pati atau selulosa) maka viskositas broth fermentasi bakterial atau khamir akan menurun  $\Rightarrow \approx$  pertumbuhan dan aktivitas hidrolisis dalam kultur broth.



# Parameter Pertumbuhan

1. Kecepatan pertumbuhan spesifik (Specific Growth Rate) atau waktu penggandaan (Doubling Time)
  2. Growth Yield
  3. Metabolic Quotient terhadap penggunaan substrat dan pembentukan produk
  4. Affinitas substrat
  5. Jumlah maksimum biomassa
- ⇒ Diperoleh dari pengamatan pembiakan biomassa secara batch atau kontinu
- ⇒ Batch culture banyak digunakan karena :
- mudah, sederhana, homogen
  - dispersi biomassa merata
  - tidak ada gradiasi konsentrasi pada medium.

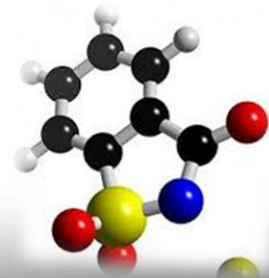


# Kecepatan pertumbuhan

- Persyaratan pertumbuhan biomassa :
  - a. Inokulum hidup dan aktif
  - b. Sumber Energi
  - c. Nutrisi
  - d. Tidak ada Inhibitor
  - e. Kondisi fisiko-kimia yang cocok

Jika dipenuhi : dalam interval waktu singkat ( $dt$ ) terjadi kenaikan jumlah biomassa ( $dx$ ) yang proporsional dengan jumlah biomassa yang ada ( $x$ )

$$dx = \mu x dt \quad \dots\dots\dots 1) \text{ atau } \frac{dx}{dt} = \mu x \quad \dots\dots\dots 2)$$



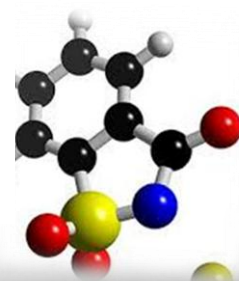


## Reaksi kimia pertumbuhan mikroba dalam suatu medium biakan

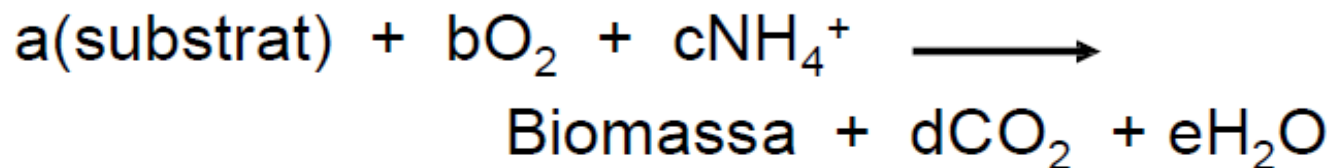
Substrat  $\longrightarrow$  mikroba + produk

Sumber: karbon  
nitrogen  
oksigen  
fosfor  
belerang  
mineral

metabolit  
CO<sub>2</sub>  
H<sub>2</sub>O  
enzim



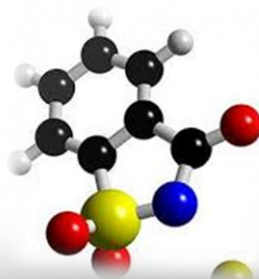
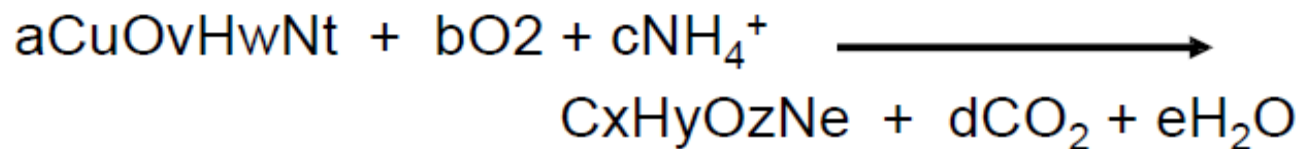
## Kesetimbangan kimia pada pertumbuhan aerobik



Komposisi Substrat berkarbon: CuOvHwNt

Biomassa      CxHyOzNe

Maka:



## Menghitung rendemen (yields)

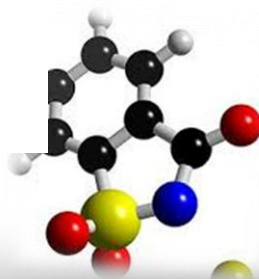
$$Y_{x/s} = \frac{\text{g biomassa terbentuk}}{\text{g substrat karbon yang digunakan}}$$

Bila  $M$  = massa molar biomassa  $C_xH_yO_zN_e$

$M'$  = massa molar substrat  $C_uO_vH_wN_t$

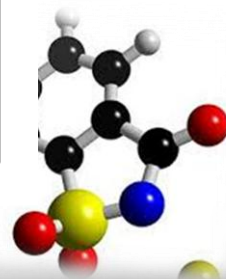
Rendemen dapat dinyatakan sebagai:

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



## Tabel rendemen biomassa dan keb.oksigen

Substrat	Mikroba	Yx/s	Kebutuhan O <sub>2</sub> (gO <sub>2</sub> /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



## Faktor lingkungan yang menghambat pertumbuhan mikroba

- Kekurangan makanan, air, atau nutrisi
- Populasi yang terlalu padat
- Akumulasi metabolit yang tidak berguna
- Kekurangan oksigen
- Perubahan pH
- Temperatur



