



BIO210 Mikrobiologi

Dr. Dwi Suryanto
Prof. Dr. Erman Munir
Nunuk Priyani, M.Sc.



DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
NORTH SUMATRA UNIVERSITY

Kuliah 6.

NUTRISI DAN MEDIA



- Kebutuhan dan syarat untuk pertumbuhan, ada 2 macam:
fisik \Rightarrow suhu, pH, dan tekanan osmosis.
kimia \Rightarrow air, sumber C dan N, mineral, O₂, dan faktor pertumbuhan organik.

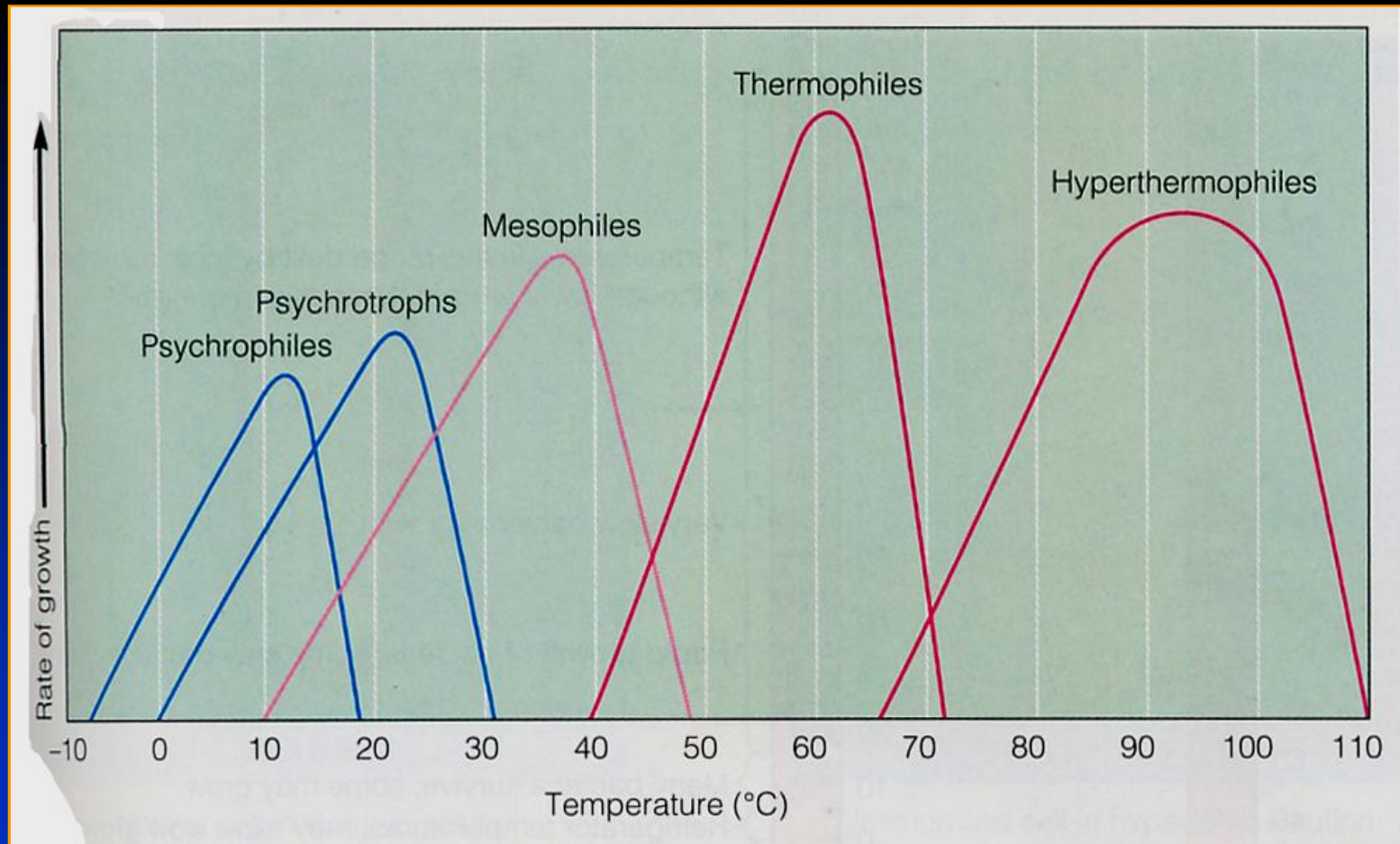
A. Kebutuhan Fisik

1. Suhu

- Mikroba tumbuh pada suhu biasa/umum seperti halnya organisme lain.
- Kebanyakan bakteri tumbuh pada kisaran suhu tertentu, sekitar 30°C.
- Beberapa bakteri dapat bertahan pada suhu sangat dingin atau sangat panas.



- Spesies bakteri dapat tumbuh pada suhu minimum, optimum, dan maksimum tertentu.
- Suhu minimum: suhu terendah untuk mikroba tetap dapat hidup.
- Suhu optimum: suhu organisme tumbuh dengan baik.
- Suhu maksimum: suhu tertinggi untuk organisme tetap dapat hidup.
- Berdasarkan faktor suhu, mikroba dibagi dalam 3 kelompok:
 1. *Psikrofil*, hidup pada suhu dingin, di bawah 20°C, optimum 15°C.
 2. *Mesofil*, hidup pada suhu antara 10-45°C.
 3. *Termofil*, hidup pada suhu tinggi 40-60°C.



Laju pertumbuhan tipikal dari mikroorganismenya berbeda dalam merespon suhu.



- Pengawetan makanan dengan refrigerator \Rightarrow menahan/menekan laju pertumbuhan semua mikroba.
- Mikroba psikrofil tetap tumbuh meski lama, sehingga dalam waktu relatif agak lama makanan tetap akan busuk.
- Bakteri patogenik biasanya mesofil \Rightarrow tumbuh baik pada suhu sekitar suhu tubuh inang, misal manusia 37°C , juga mikroba pembusuk.
- Bakteri termofil ada yang tumbuh mendekati suhu 90°C .
- Termofil juga merupakan bagian penting dari pengkomposan; proses ini dapat mencapai suhu $50\text{-}60^{\circ}\text{C}$
- Endospora tahan panas.



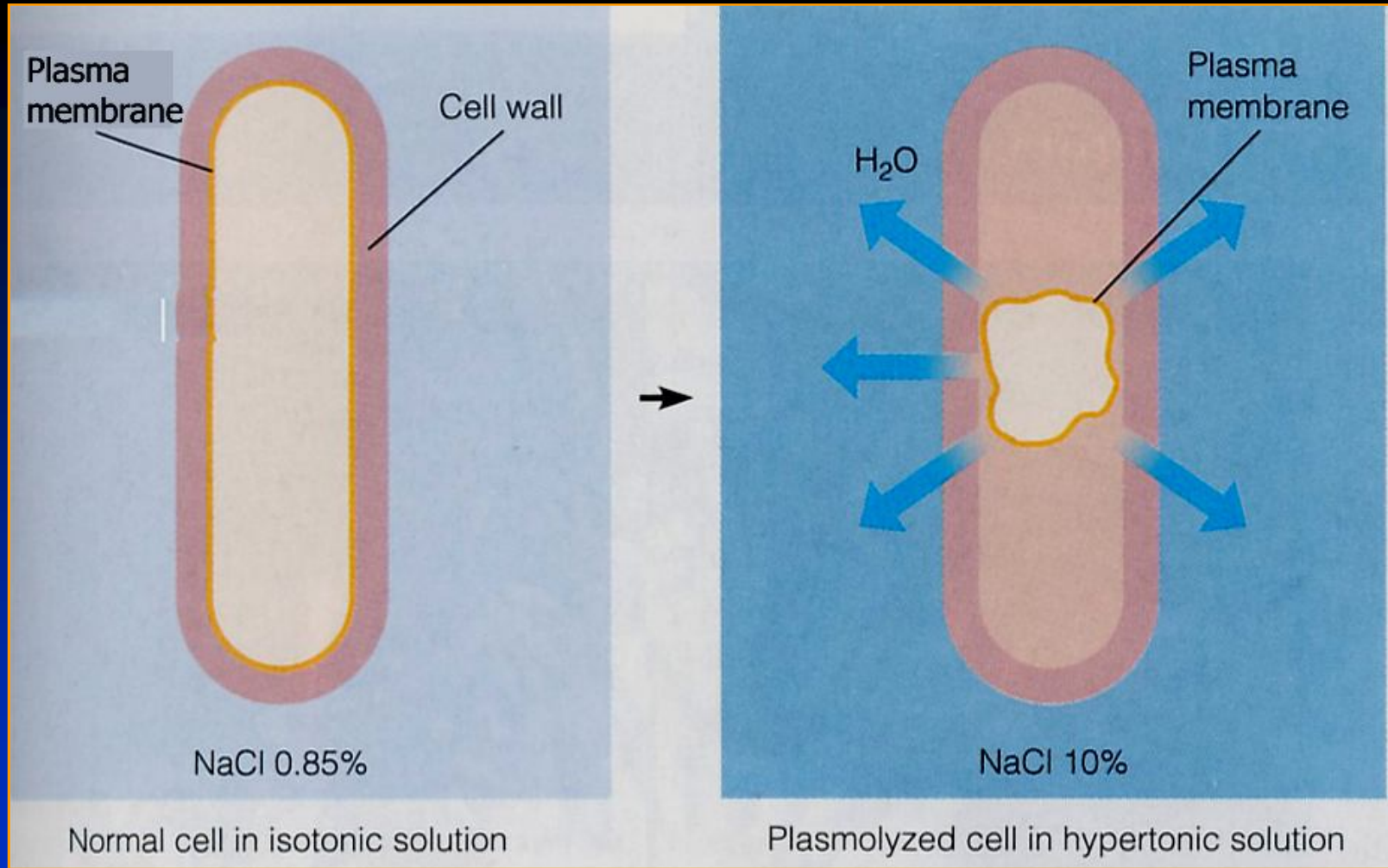
2. *pH*

- Kebanyakan bakteri tumbuh pada kisaran sempit; pH mendekati netral (6.5-7.5).
- Sedikit bakteri yang tumbuh pada pH asam di bawah 4, misal bakteri acar, sauerkrout, dan beberapa keju.
- Ada bakteri bahkan dapat hidup pada pH 1.
- Jamur dan yeast akan tumbuh pada kisaran pH yang lebih luas daripada pH bakteri, tetapi pH optimum jamur dan yeast biasanya di bawah bakteri (5-6).
- Alkalinitas juga menghambat tumbuhanm tapi tidak digunakan sebagai preservasi.



3. Tekanan osmosis

- Mikroba memerlukan air untuk pertumbuhan.
- Sewaktu sel mikroba di dalam larutan dan konsentrasi larutan lebih tinggi, air sel akan keluar membran sitoplasma \Rightarrow **plasmolisis**.
- Keadaan ini dimanfaatkan untuk preservasi seperti menanbah garam dan gula dalam larutan.
- Ekstrem halofil \Rightarrow beberapa bakteri tahan hidup pada kondisi konsentrasi garam tinggi .
- Fakultatif halofil \Rightarrow konsentrasi garam sampai 2%, bahkan ada yang 15%.
- Media pertumbuhan biasanya menggunakan garam kurang daripada 1.5%.



Plasmolysis.



B. Kebutuhan kimia

1. Karbon (C)

- C yang diperlukan oleh semua senyawa organik penyusun sel.
- C merupakan tulang punggung struktural dari bahan hayati.
- Dengan valensi 4 memungkinkan membentuk pemanjangan dan kompleksitas.
- Sekitar $\frac{1}{2}$ berat kering bakteri berupa karbon.
- Berdasarkan kebutuhan C dan energi mikroba dibagi dalam:

Tipe nutrisi	Sumber energi	Sumber karbon	Contoh
Fotoautotrof	Cahaya	CO ₂	Bakteri fotosintetik (bakteri sulfur hijau dan ungu), sianobakter, alga, tumbuhan
Fotoheterotrof	Cahaya	bahan organik	Bakteri ungu dan hijau nonsulfur
Kemoautotrof	bahan anorganik	CO ₂	bakteri hidrogen, sulfur, besi, dan nitrifikasi
Kemoheterotrof	bahan organik	bahan organik	kebanyakan bakteri, fungi, protozoa, dan semua hewan



2. *Nitrogen (N), sulfur (S), dan fosfat (P)*

- Digunakan dalam sintesis bahan sel.
- Sintesis protein membutuhkan N; DNA dan RNA membutuhkan N dan P untuk membuat ATP.
- N, S, dan P \Rightarrow 18% berat kering sel; 15% N.
- Sumber N \Rightarrow dekomposisi protein, NH_4^+ , nitrat NO_3^- ; beberapa bakteri dan sianobakter menggunakan gas $\text{N}_2 \Rightarrow$ fiksasi nitrogen bebas.
- Sumber S \Rightarrow ion SO_4^{2-} , H_2S , dan asam amino S.
- Sumber P \Rightarrow ion PO_4^{3-} .

3. *Unsur kelumit*

- Dibutuhkan dalam jumlah sedikit: Fe, Cu, Mo, dan Zn.



4. *Kebutuhan Oksigen*

Aerob

- Mikroba yang menggunakan $O_2 \Rightarrow$ memproduksi lebih banyak energi dari makanan daripada mikroba yang tidak menggunakan.
- **Obligat aerob** \Rightarrow memiliki kelemahan jika kurang O_2 , misal dalam air; membutuhkan oksigen secara mutlak untuk kehidupannya.
- **Fakultatif anaerob** \Rightarrow aerob yang dapat hidup dalam keadaan tidak ada O_2 , misal bakteri saluran pencernaan melakukan fermentasi dan respirasi anaerob.








Obligat anaerob

- Bakteri yang tidak menggunakan O_2 untuk menghasilkan energi *Aerotoleran anaerob*.
- Tidak menggunakan O_2 tetapi cukup toleran.
- Kebanyakan organisme ini bersifat menfermentasi karbohidrat menjadi asam laktat.
- *Lactobacillus* \Rightarrow digunakan dalam fermentasi makanan menjadi acar dan keju.

Mikroaerofilik

- Hidup pada konsentrasi O_2 yang lebih rendah daripada O_2 udara.



<i>The Effect of Oxygen on the Growth of Various Types of Bacteria</i>					
	a. Obligate Aerobes	b. Facultative Anaerobes	c. Obligate Anaerobes	d. Aerotolerant Anaerobes	e. Microaerophiles
Effect of oxygen on growth	Only aerobic growth; oxygen required.	Both aerobic and anaerobic growth; greater growth in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; ceases in presence of oxygen.	Only anaerobic growth; but continues in presence of oxygen.	Only aerobic growth; oxygen required in low concentration.
Bacterial growth in tube of solid growth medium					
Explanation of growth patterns	Growth occurs only where high concentrations of oxygen have diffused into the medium.	Growth is best where most oxygen is present, but occurs throughout tube.	Growth occurs only where there is no oxygen.	Growth occurs evenly; oxygen has no effect.	Growth occurs only where a low concentration of oxygen has diffused into medium.
Explanation of oxygen's effects	Presence of enzymes catalase and SOD allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Presence of enzymes catalase and SOD allows toxic forms of oxygen to be neutralized; can use oxygen.	Lacks enzymes to neutralize harmful forms of oxygen; cannot tolerate oxygen.	Presence of one enzyme, SOD, allows harmful forms of oxygen to be partially neutralized; tolerates oxygen.	Produce lethal amounts of toxic forms of oxygen if exposed to normal atmospheric oxygen.

Pola penggunaan oksigen.



Mengapa dengan O_2

- Oksigen singlet \Rightarrow molekul oksigen dalam keadaan berenergi tinggi, sangat reaktif; biasanya terbentuk karena cahaya tampak.
- Ada dalam fagosit \Rightarrow merusak sel asing.
- Radikal bebas superoksida (O_2^-) \Rightarrow terbentuk selama respirasi normal dari organisme yang menggunakan O_2 sebagai penerima elektron terakhir.
- Jika ada oksigen obligat anaerob, misal Clostridium terlihat membentuk radikal bebas superoksida \Rightarrow racun untuk sel.
- Organisme mengeluarkan enzim superoksida dismutase untuk menetralkan radikal ini.



- **Aerob, fakultatif, dan aerotoleran anaerob menggunakan enzim ini untuk mengubah radikal bebas superoksida menjadi O_2 dan H_2O_2 ; H_2O_2 kemudian dikonversi menjadi O_2 dan H_2O oleh enzim katalase.**
- **Peroksidase merupakan enzim lain pemecah H_2O_2 , tidak menghasilkan oksigen.**
- **Peroksida (O_2^-) \Rightarrow bentuk racun oksigen yang mungkin terjadi selama respirasi normal.**
- **Radikal bebas hidroksil (OH^*) \Rightarrow bentuk antara oksigen dan mungkin yang paling reaktif.**
- **Terbentuk dalam sitoplasma karena radiasi ionisasi, juga dari radikal bebas superoksida dan peroksida; respirasi aerob memproduksi senyawa ini.**



Jenis mikroba	Katalase	Superoksida dismutase
Aerob dan fakultatif anaerob	+	+
Aerotoleran anaerob	-	+
Obligat anaerob	-	-



5. Faktor pertumbuhan organik

- Faktor esensial yang tidak dapat dibuat oleh organisme, harus diperoleh langsung dari lingkungan, misal vitamin
⇒ kebanyakan diproduksi oleh mikroba, tapi ada kalanya mikroba tidak memiliki enzim untuk produksi vitamin.
- Faktor organik lain yang dibutuhkan: asam amino, purin, dan pirimidin.



Media

- Beberapa bakteri dapat mudah tumbuh pada berbagai medium, bakteri lain membutuhkan media khusus.
- Media merupakan bahan nutrisi yang disiapkan untuk pertumbuhan mikroba.
- Agar-agar merupakan kompleks polisakarida, dihasilkan oleh alga laut dan digunakan untuk pematat pada makanan.

Keunggulan agar:

- Sedikit organisme yang dapat mendegradasi.
- Mencair pada suhu sama dengan air, namun tetap dalam keadaan cair sampai suhu sekitar 40°C \Rightarrow untuk kegiatan laboratorium diletakkan pada penangas air suhu 50°C .
- Pada suhu ini agar tidak merusak bakteri, juga dapat dicampur dalam penangas air sehingga didapat suspensi bakteri yang seragam.



Media kimia pasti (chemically defined media)

- Penyiapan media harus mempertimbangkan:
Penyediaan energi.
Sumber karbon, nitrogen, sulfur, dan fosfor.
Faktor pertumbuhan yang diperlukan yang tidak mampu disintesis organisme.
- Media kimia pasti merupakan media yang komposisi kimia diketahui dengan pasti.
- Organisme yang membutuhkan banyak faktor pertumbuhan disebut ***fastidious*** \Rightarrow mencerminkan bahwa organisme tersebut tidak mampu menghasilkan sendiri bahan-bahan yang diperlukan.



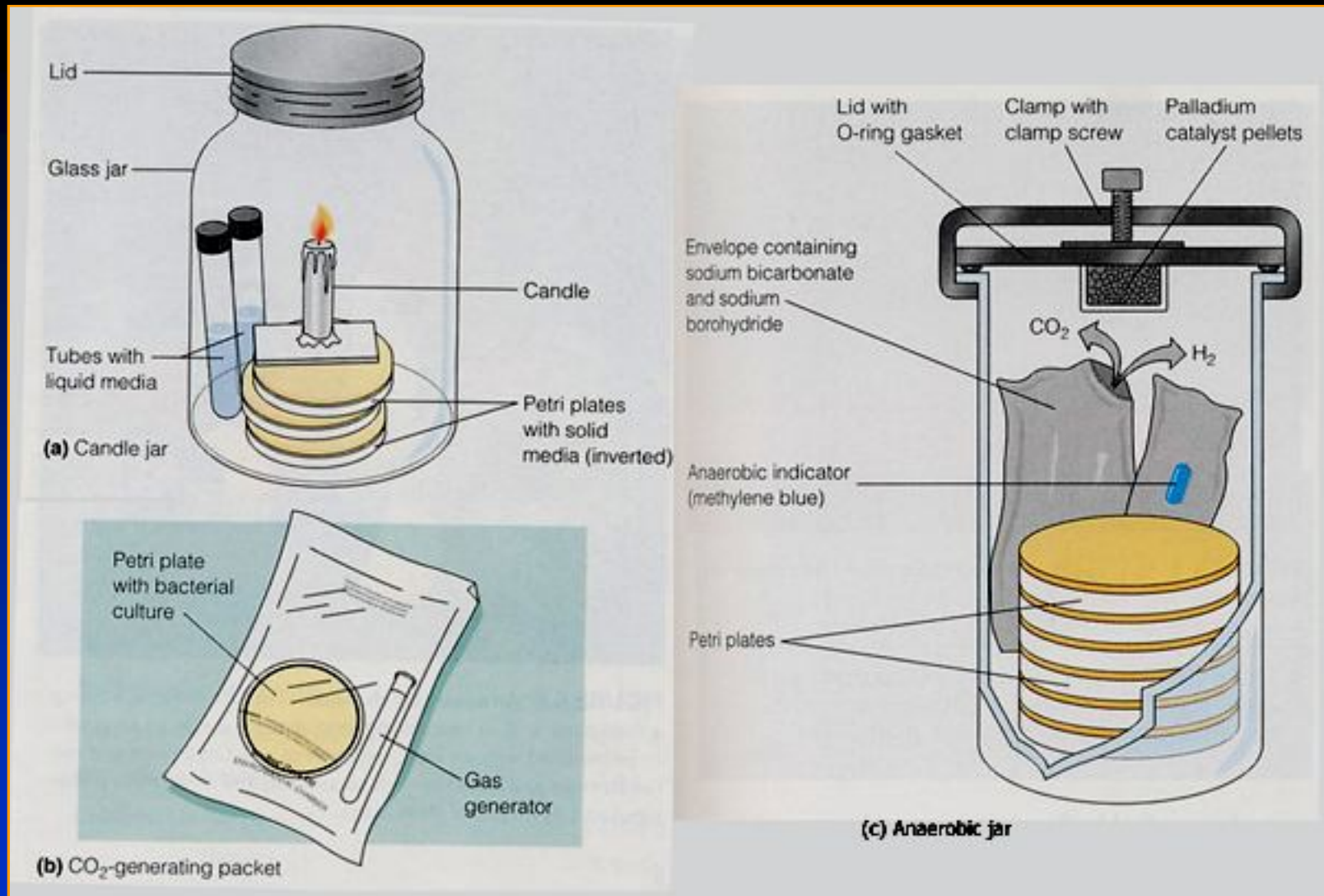
Media kompleks

- Kebanyakan bakteri dan fungi heterotrof secara rutin ditumbuhkan pada media kompleks \Rightarrow media yang komposisi pasti bahan kimia sedikit beragam dari satu kultur ke kultur lain.
- Media kompleks biasanya terdiri dari ekstrak yeast, daging sapi, tumbuhan, atau protein yang sudah dicerna.
- Pada media kompleks energi, karbon, nitrogen, dan sulfur yang dibutuhkan oleh mikroba yang tumbuh dipenuhi sebagian besar oleh protein; masalahnya protein sering bersifat tak larut sehingga perlu didigesti.
- Vitamin dan faktor pertumbuhan organik lain disediakan oleh ekstrak yeast dan daging; ekstrak yeast kaya akan vitamin B.



Media anaerobik

- Karena anarob dapat terbunuh jika terkena $O_2 \Rightarrow$ ada media khusus media reduksi (***reducing media***)
- Mengandung bahan seperti natrium tioglikolat yang dapat berikatan dengan oksigen terlarut dan menghilangkan oksigen pada medium.
- Pemanasan alat untuk kultur juga bisa dilakukan untuk mengusir O_2 .
- Juga dapat digunakan stoples khusus anaerobik jar; O_2 dibuang dengan bahan kimia dalam sachet berisi Na bikarbonat dan Na borohidrat dalam tabung jar yang dilembabkan dengan beberapa mililiter air
- Hidrogen dan CO_2 diproduksi dari reaksi bahan kimia tersebut dengan air

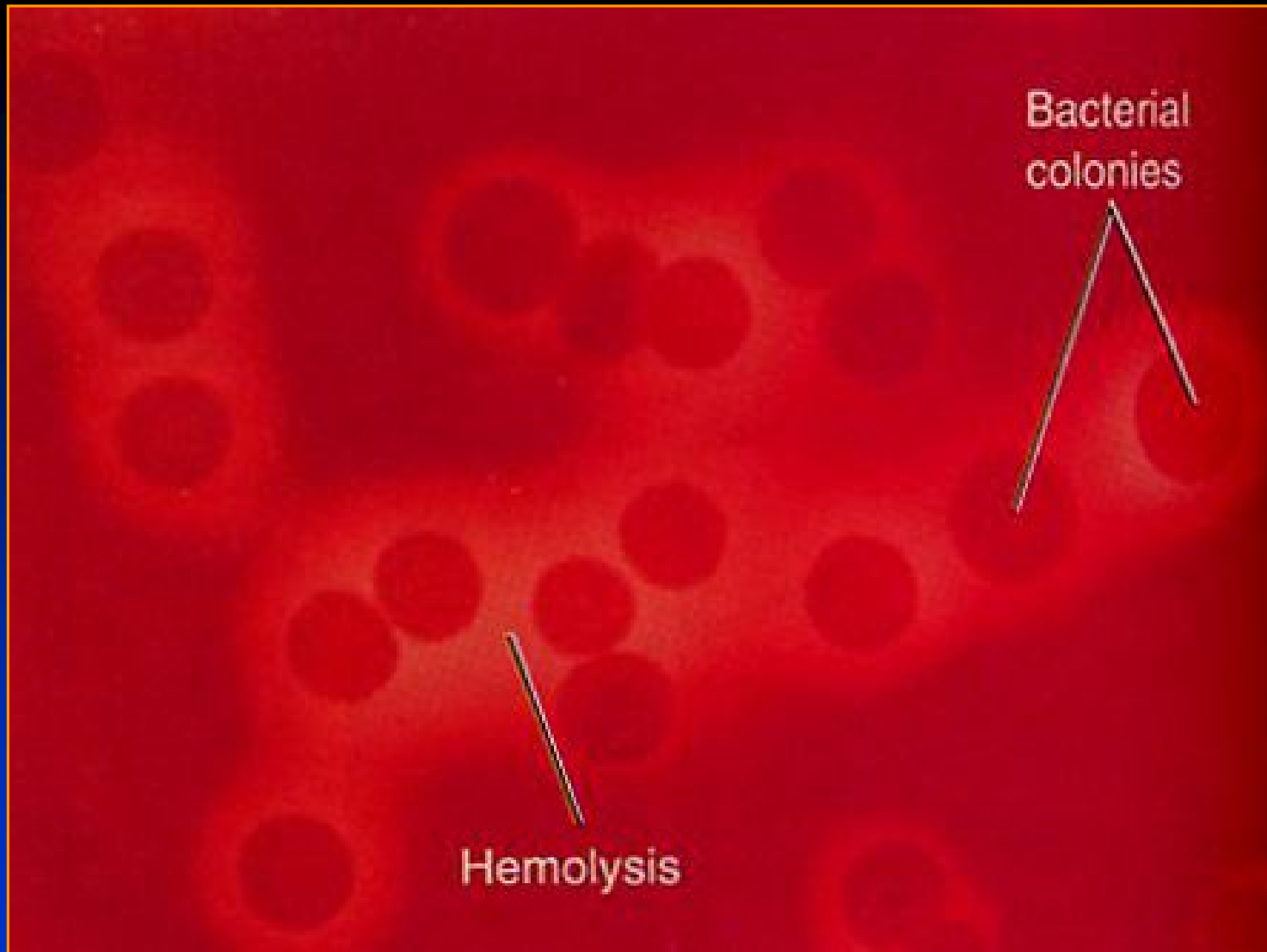


Jar untuk kultivasi bakteri anaerob.



Media selektif dan diferensial

- Media selektif dibuat untuk menekan pertumbuhan bakteri yang tidak diinginkan dan meningkatkan pertumbuhan bakteri yang diinginkan, contoh:
 - Bismuth sulfide agar (BSA)*** \Rightarrow bakteri tifoid dari feses
 - Sabouraud's glucose agar*** pH 5.6 \Rightarrow isolasi fungi
 - Brilliant green agar*** \Rightarrow Gram - batang *Salmonella*, menghambat pertumbuhan Gram -
- Media diferensial \Rightarrow memudahkan untuk mengenali koloni organisme yang diinginkan dengan organisme lain yang tumbuh di media yang sama, contoh:
 - Agar darah** \Rightarrow untuk bakteri pemecah darah seperti *Streptococcus pyogenes*



Agar darah, medium diferensial mengandung sel darah.

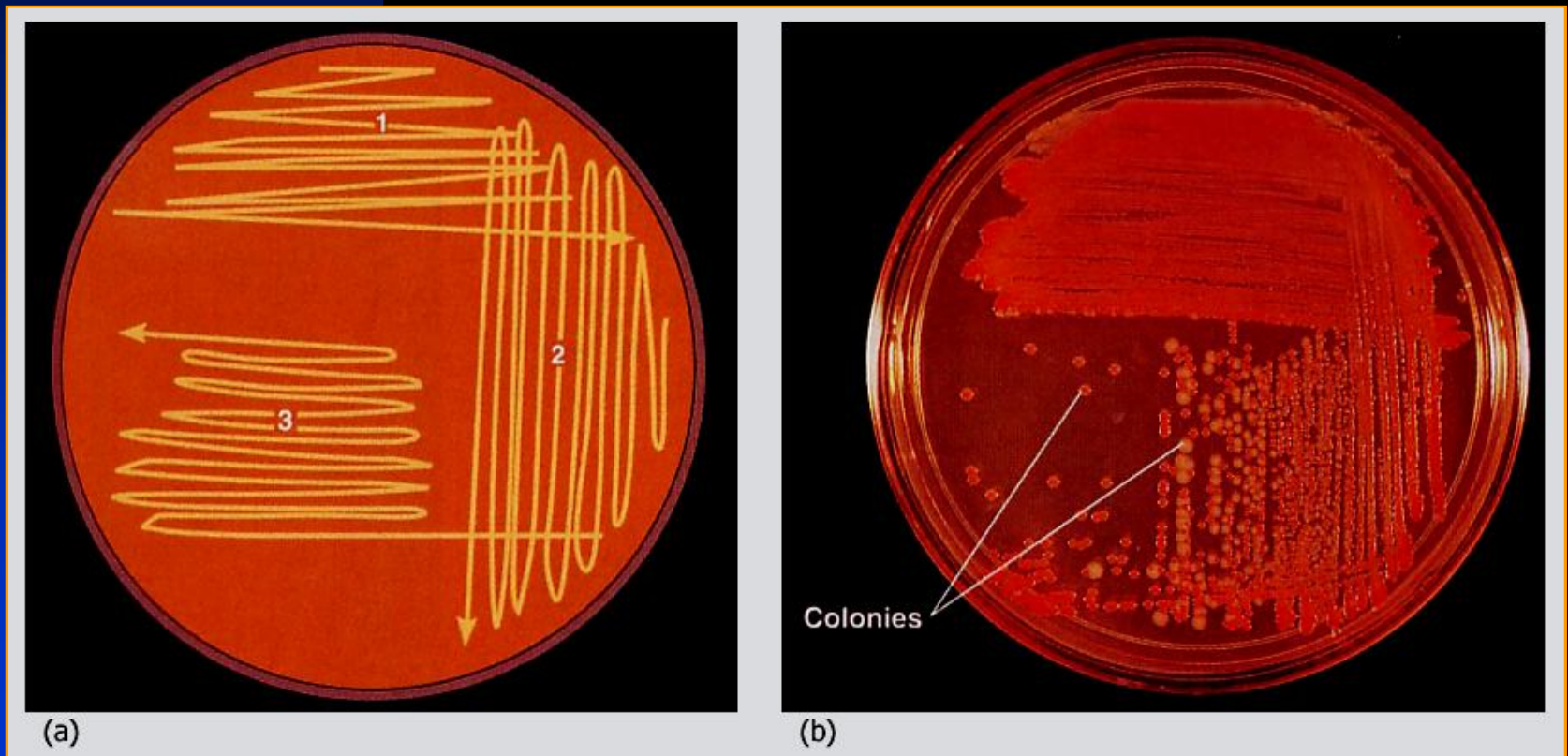


- Kadang kala media selektif dan diferensial digunakan bersama, misal ingin mengisolasi *Staphylococcus aureus* dengan menggunakan media garam manitol \Rightarrow memfermentasi manitol dan toleran terhadap kadar garam tinggi (7.5% NaCl).
- Media juga mengandung indikator pH yang merubah warna jika manitol difermentasi menjadi asam.
- Contoh lain: agar MacConkey \Rightarrow mengandung garam empedu dan kristal violet, menghambat Gram + karena mengandung laktosa.
fermentasi laktosa \Rightarrow merah atau merah muda
non fermentasi laktosa \Rightarrow tak berwarna.



Kultur Murni

- Kebanyakan pekerjaan di bidang mikrobiologi membutuhkan kultur murni.
- Metode isolasi yang paling sering digunakan yaitu metode gores (streak plate method).



Metode gores untuk isolasi kultur murni.



Preservasi Kultur Bakteri

- Refrigerator dapat digunakan untuk waktu tak lama.
- Ada 2 metode umum untuk preservasi kultur bakteri, yaitu:
 - Deep-freezing***, suatu proses yang menempatkan kultur bakteri dalam suatu suspensi cair kemudian dibekukan segera pada suhu antara -50°C sampai -95°C .
 - Liofilisasi (freeze-drying)***, suspensi mikroba dibekukan dengan segera pada suhu -54°C sampai -72°C , dan air dibuang dengan vakum kuat.



DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF MATHEMATICS AND NATURAL SCIENCES
NORTH SUMATRA UNIVERSITY

Terima Kasih