



**MODUL BIOINDUSTRI  
(IBL 610)**

**MODUL SESI KE-3  
KINETIKA PERTUMBUHAN BAKTERI**

**DISUSUN OLEH**

**Dr. Henny Saraswati, S.Si, M.Biomed**

Universitas  
**Esa Unggul**

**UNIVERSITAS ESA UNGGUL**

**2020**

## KINETIKA PERTUMBUHAN MIKROBA

### A. Kemampuan Akhir Yang Diharapkan

Setelah mempelajari modul ini, diharapkan mahasiswa mampu :

1. Menjelaskan kinetika pertumbuhan bakteri.
2. Menjelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba dalam kondisi terkontrol.
3. Menjelaskan media yang digunakan dalam pertumbuhan mikroba (bakteri).
4. Menjelaskan metoda dalam pengukuran pertumbuhan bakteri.

### B. Uraian dan Contoh

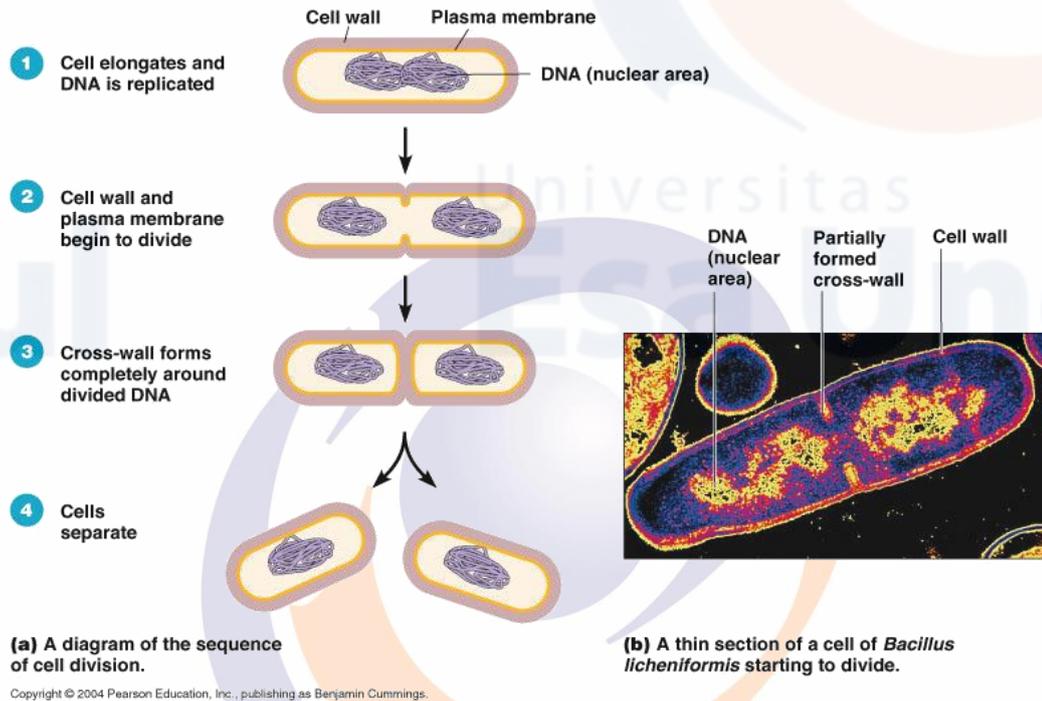
Setelah kita mengetahui bahwa mikroba dapat dimanfaatkan dalam berbagai sektor industri, maka pada pertemuan kali ini, kita akan membahas mengenai kinetika pertumbuhan mikroba, dalam hal ini bakteri. Hal ini dikarenakan pertumbuhan bakteri mudah diamati dan telah banyak riset mengenainya.

Telah anda ketahui bersama dari perkuliahan sebelumnya, bahwa pertumbuhan mikroba melalui beberapa fase. Hal ini akan kita perdalam lagi di perkuliahan kali ini.

Mikroba memiliki karakteristik pertumbuhan tersendiri, berbeda dengan kelompok organisme yang lain. Jika kita menyebutkan pertumbuhan mikroba maka hal itu berarti perbanyak jumlah sel mikroba. Pengukuran pertumbuhan mikroba bisa diukur dari penambahan biomassa atau jumlah sel. Perbanyak sel ini berlangsung cepat, hingga dalam kurun waktu yang singkat bisa didapatkan jumlah mikroba yang sangat banyak. Pertumbuhan mikroba ini dapat terus berlangsung sepanjang nutrisi dan kondisi lingkungan yang dibutuhkan oleh mikroba tersedia. Selama proses pertumbuhannya, mikroba akan menghasilkan metabolit primer dan sekunder yang dapat dimanfaatkan.

Terdapat istilah waktu generasi dalam pertumbuhan sel mikroba. Istilah ini berarti selang waktu yang diperlukan oleh sel mikroba untuk membelah diri. Setiap bakteri memiliki selang waktu yang berbeda-beda. Salah satu contoh yang bisa kita ambil adalah *Escherichia coli*. Bakteri ini merupakan bakteri yang sering

digunakan dalam riset rekayasa genetika dan menyebabkan penyakit yang berkaitan dengan saluran pencernaan manusia. Bakteri ini memiliki waktu generasi 15-20 menit. Artinya setiap 15-20 menit sekali bakteri ini membelah. Dapat dibayangkan berapa jumlah bakteri ini dalam 1 jam membelah.



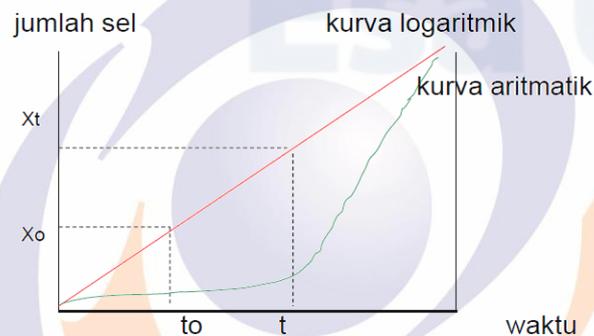
Gambar 1. Proses pembelahan sel bakteri (pembelahan biner). Dimulai dari satu sel yang kemudian membelah menjadi 2 sel baru.

Tabel 1. Jumlah sel mikroba yang bertambah seiring dengan pertambahan waktu.

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
$2^0$	$2^1$	$2^2$	$2^3$	$2^4$	$2^5$	$2^6$	$2^7$	$2^8$	$2^9$

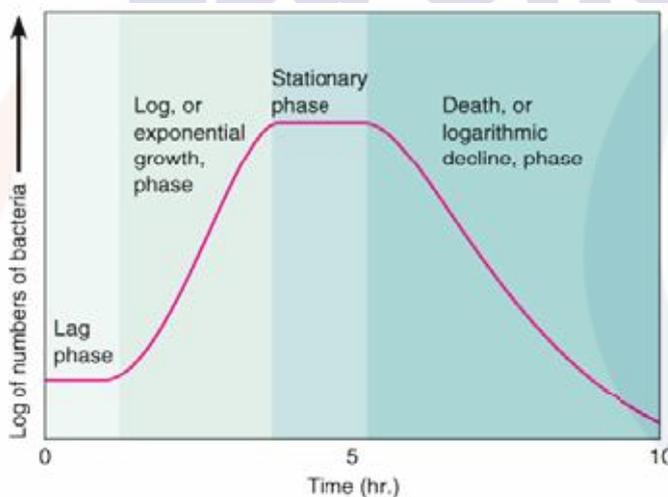
Pada tabel 1. di atas memperlihatkan jumlah sel bakteri yang meningkat berlipat ganda setelah beberapa waktu. Setiap 15 menit jumlah sel bertambah 2 kali lipatnya. Hubungan antara penambahan sel dengan waktu adalah hubungan eksponensial dengan rumus  $2^n$ .

Jika sejumlah sel mikroba ( $X_0$ ) dikembangbiakkan selama waktu tertentu ( $t$ ) dalam medium pertumbuhan, maka sel akan membelah dan jumlahnya menjadi  $X_t$ . Pertumbuhan sel tersebut berhubungan dengan laju pertumbuhan serta waktu generasi suatu sel. Hubungan antara waktu dengan jumlah sel dalam proses pertumbuhan dapat digambarkan dengan grafik pertumbuhan sebagai berikut :



Gambar 2. Grafik pertumbuhan sel bakteri, memperlihatkan bahwa dengan bertambahnya waktu, maka jumlah sel juga akan meningkat.

Jika suatu bakteri ditumbuhkan dalam medium pertumbuhan, maka karakteristik pertumbuhannya dapat digambarkan dengan kurva pertumbuhan bakteri.



Gambar 3. Kurva pertumbuhan bakteri.

Pada kurva pertumbuhan ini terlihat adanya 4 fase pertumbuhan, yaitu **fase lag, fase log, fase stasioner dan fase kematian.**

- **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.

- **Fase stasioner**

Terjadi penumpukan racun akibat metabolisme sel dan kandungan nutrisi mulai habis, akibatnya terjadi kompetisi untuk mendapatkan nutrisi oleh sel 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 nutrisi pertumbuhan sudah sangat berkurang dan kondisi lingkungan pertumbuhan sangat tidak mendukung pembentukan sel baru sehingga banyak sel yang mati.

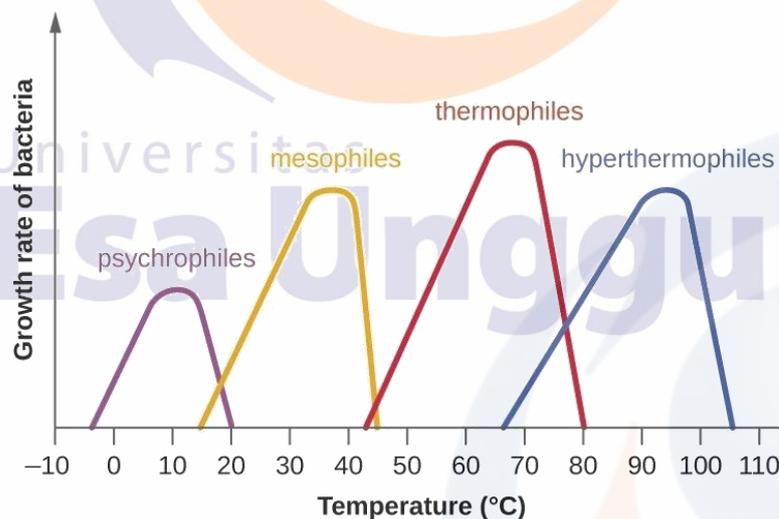
Pertumbuhan sel mikroba itu dipengaruhi oleh beberapa hal. Faktor nutrisi memegang peranan penting untuk dapat digunakan oleh sel untuk proses metabolisme dan pembelahannya. Nutrisi yang diperlukan oleh mikroba adalah nutrisi yang mengandung karbon, nitrogen, sulfur, fosfor dan beberapa unsur lain. Selain nutrisi terdapat pula faktor fisik seperti suhu, pH, tekanan osmotik dan oksigen.

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.

Mikroba-mikroba memiliki suhu optimal untuk pertumbuhannya. Ada mikroba yang dapat hidup pada suhu yang sangat dingin hingga sangat panas.

1. **Psikrofil** adalah mikroba yang dapat hidup pada suhu sangat dingin (-20 hingga 20°C). Mikroba jenis ini dapat ditemukan pada tempat-tempat yang sangat dingin seperti kutub dan dasar laut.
2. **Mesofil** adalah mikroba yang dapat hidup pada suhu moderat (20 hingga 40°C).
3. **Termofil** adalah mikroba yang hidup pada suhu sangat tinggi (40 hingga 80°C). Bakteri ini bisa ditemukan pada tempat-tempat yang sangat panas seperti mata air panas.



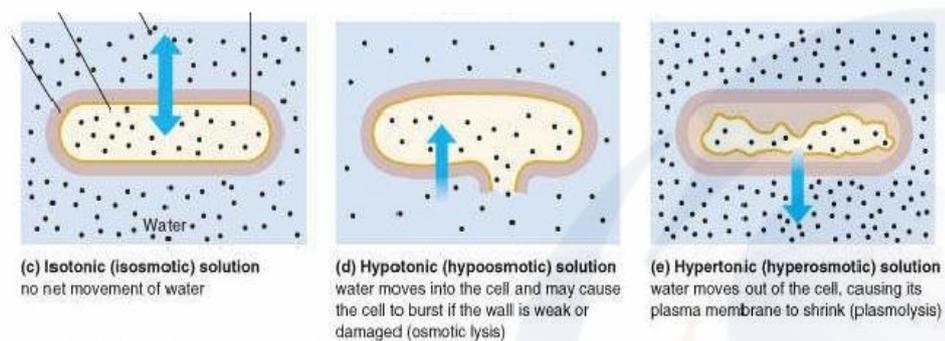
Gambar 4. Beberapa jenis mikroba yang dapat hidup pada beberapa suhu lingkungan dari yang sangat dingin hingga sangat panas.

Selain suhu, kondisi lingkungan yang berpengaruh pada pertumbuhan adalah tingkat keasaman (pH). Faktor lingkungan ini dapat mempengaruhi proses

metabolisme sel. Mikroba juga dapat hidup pada tingkat keasaman yang berbeda-beda pula. Pada umumnya mikroba, khususnya bakteri dapat berkembang biak secara optimal pada pH 6,5 - 7. Hanya sedikit bakteri yang bisa hidup pada kondisi pH < 4 (kondisi yang sangat asam).

Pada mikroba yang hidup di perairan kepekatan cairan pada lingkungan dapat mempengaruhi keberlangsungan hidup bakteri. Kepekatan cairan akan menimbulkan tekanan osmotik yang berperan dalam proses keluar masuknya cairan dari dalam sel ke lingkungan luar sel. Bila kepekatan cairan tinggi maka cairan di dalam sel akan bergerak ke luar sel. Sebaliknya jika kepekatan cairan di lingkungan rendah maka akan terjadi pergerakan cairan ke dalam sel. Berdasarkan kepekatannya, maka cairan dapat dibedakan menjadi :

1. **Isotonik**, jika molekul di luar sel sama dengan molekul di dalam sel. Hal ini menyebabkan pergerakan cairan dari dan ke luar sel sedikit sekali terjadi.
2. **Hipertonik**, jika molekul di luar sel lebih tinggi dari dalam sel sehingga menyebabkan cairan keluar dari dalam sel. Pada sel bakteri, hal ini akan menyebabkan membran plasma mengerut.
3. **Hipotonic**, jika molekul di dalam sel lebih banyak dibandingkan di luar sel, sehingga menyebabkan cairan dari luar sel masuk ke dalam sel. Hal ini menyebabkan sel menggelembung.



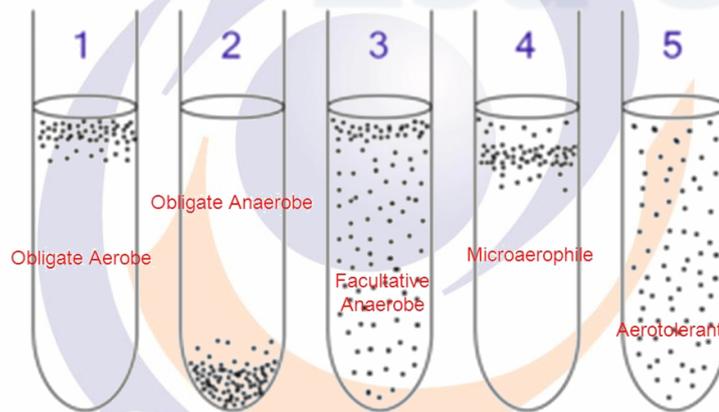
Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Gambar 5. Dampak tonisitas larutan pada sel bakteri. Larutan bisa berupa isotonic (c), hipotonik (d) atau hipertonik.

Selain kepekatan larutan di lingkungan, faktor lain yang berperan dalam pertumbuhan mikroba adalah keberadaan oksigen. Mikroba memiliki kebutuhan

akan oksigen yang bermacam-macam, ada yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya, ada pula yang justru tidak memerlukan oksigen. Berdasarkan hal ini, maka mikroba dapat digolongkan menjadi 3 kelompok, yaitu :

1. **Aerobik/obligate aerobe** : hanya dapat tumbuh apabila ada oksigen bebas.
2. **Anaerob/obligate anaerobe** : 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.
5. **Aerotolerant** : dapat tumbuh dengan proses fermentasi, tetapi dapat mentoleransi kadar oksigen bebas di lingkungan.



Gambar 6. Mikroba dapat dikelompokkan berdasarkan kebutuhannya akan oksigen, (1) obligate aerob, sangat membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya, sehingga bakteri akan berkumpul di permukaan media, sebaliknya (2) obligate anaerob justru tidak memerlukan oksigen untuk pertumbuhannya. Mikroba (3) anaerob fakultatif dapat tumbuh tanpa atau dengan adanya oksigen, namun jika oksigen tersedia maka respirasi dengan oksigen akan dilakukan, mikroba (4) mikroaerofilik memerlukan oksigen dalam jumlah kecil dan mikroba (5) aerotolerant tidak akan terpengaruh dengan ada tidaknya oksigen sehingga terdapat di seluruh medium secara merata.

Nutrisi sangat diperlukan oleh mikroba dalam pertumbuhannya. Nutrisi yang diperlukan dalam jumlah besar adalah karbon (C), sumber energi dan sumber elektron. Mikroba dapat digolongkan menjadi beberapa kelompok berdasarkan sumber karbon, energi dan elektron.

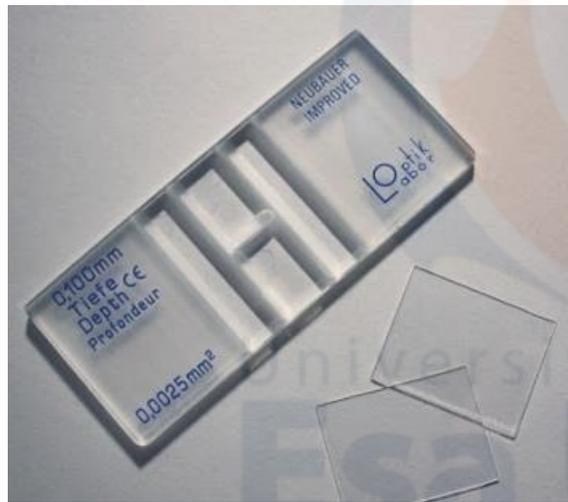
1. Mikroba dapat dibedakan berdasarkan sumber karbon (C) yang digunakan.
  - **Autotrof** : menggunakan CO<sub>2</sub> sebagai sumber karbon.

- **Heterotrof** : menggunakan substrat organik (organisme lain) sebagai sumber karbon.
2. Mikroba dapat dibedakan berdasarkan sumber energi yang digunakan.
    - **Fototrof** : menggunakan cahaya sebagai sumber energi.
    - **Kemotrof** : menggunakan senyawa organik dan inorganik sebagai sumber energi.
  3. Mikroba dapat dibedakan berdasarkan sumber elektron yang digunakan
    - **Litotrof** : menggunakan senyawa inorganik (mineral) sebagai sumber elektron.
    - **Organotrof** : menggunakan molekul organik sebagai sumber elektron.

Demikianlah terdapat beberapa faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba. Pertanyaan selanjutnya adalah bagaimana kita dapat menghitung pertumbuhan mikroba? Untuk metode ini kita menggunakan contoh menghitung pertumbuhan bakteri. Metode pengukuran ini ada beberapa cara, antara lain :

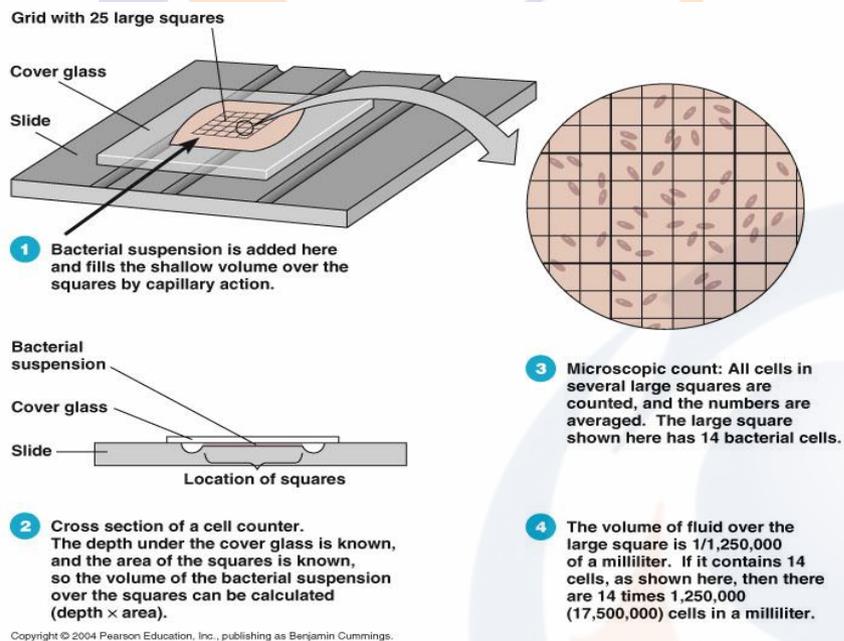
1. Mengukur banyaknya sel
  - a) Perhitungan mikroskopis
  - b) Perhitungan dengan kultur di cawan petri,
  - c) Culture slide
  - d) Coloni counter
  - e) Nefolometri
2. Mengukur Massa Sel : Metode Langsung
  - a) Bobot Sel Kering
  - b) Turbiditas
3. Estimasi Massa Sel Metode Tidak Langsung
  - a) Komponen Sel
  - b) Pengambilan Nutrien
  - c) Pembentukan Produk
  - d) Evolusi Panas
  - e) Volume Sel Terkemas
  - f) Viskositas

Penghitungan jumlah sel secara mikroskopis dapat dilakukan dengan bantuan bilik hitung Hemocytometer (Gambar 7).



Gambar 7. Bilik hitung hemocytometer.

Cara menghitung mikroba di bilik hitung hemocytometer adalah dengan cara mengalikan jumlah sel yang teramati dikalikan volume cairan yang dimasukkan ke dalam bilik hitung.

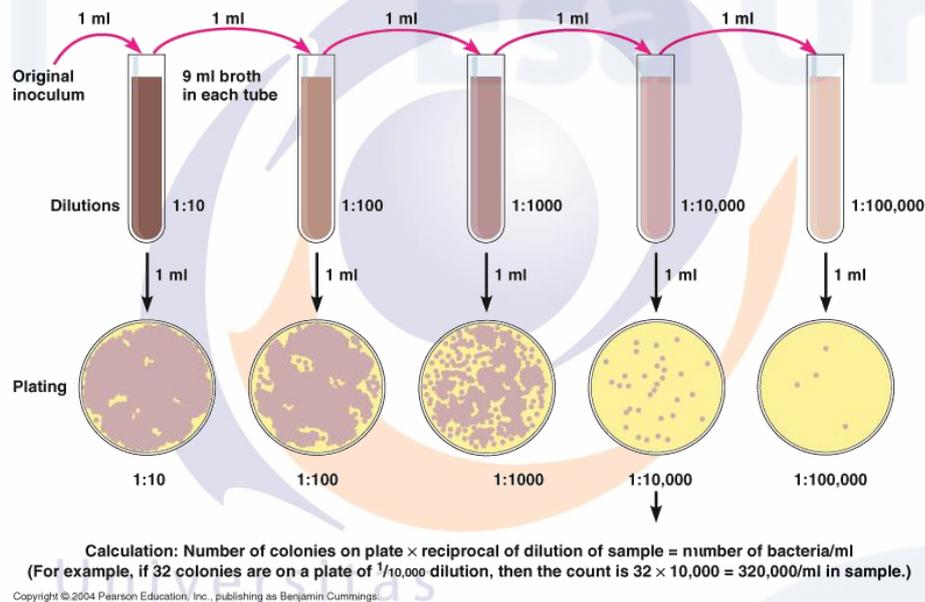


Gambar 8. Cara menghitung bakteri dalam bilik hitung hemocytometer.

Untuk memudahkan dalam membedakan antara sel hidup dengan sel mati bisa digunakan pewarna metilen blue atau trypan blue. Sel yang mati akan

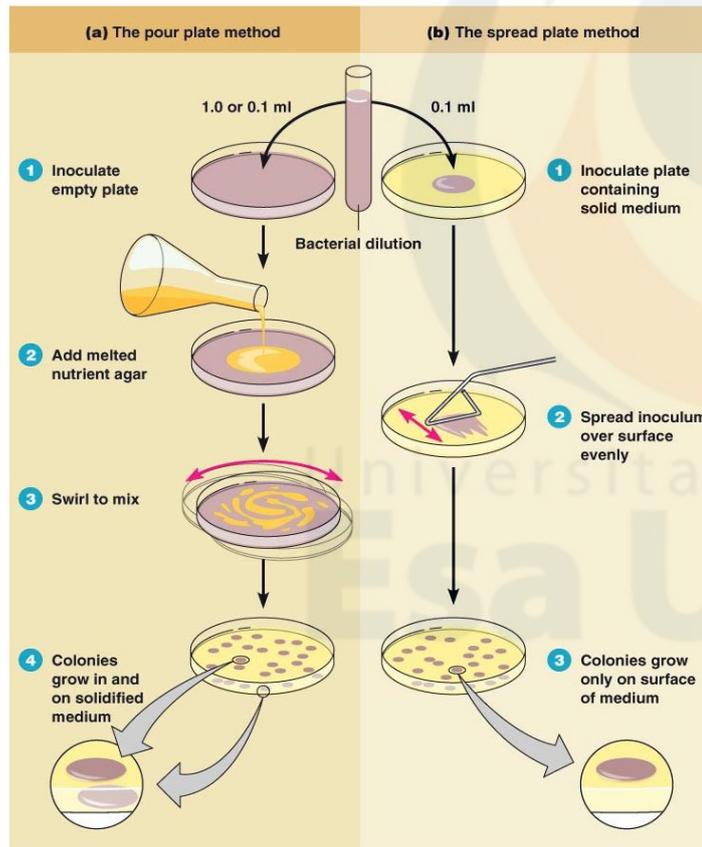
terwarnai biru. Kelemahan penghitungan bakteri dengan hemocytometer adalah ukuran bakteri yang sangat kecil, sehingga tidak mudah teramati dengan jelas.

Cara penghitungan bakteri lainnya adalah dengan penghitungan dengan cawan petri (*plate count*). Pada metode ini dilakukan pengenceran kultur bakteri kemudian ditebarkan pada cawan petri yang sudah memiliki medium pertumbuhan. Pengenceran ini dilakukan secara bertingkat. Penyebaran bakteri pada cawan Petri dilakukan dengan batang gelas steril. Setelah dilakukan penyebaran, maka bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu pertumbuhan optimal. Ketika telah terbentuk koloni, maka dihitung dan dikalikan dengan pengenceran yang dilakukan (Gambar 9).



Gambar 9. Cara penghitungan sel bakteri dengan metode penanaman pada *plate count*.

Terdapat modifikasi dari metode plate count, yaitu dengan (a) *pour plate count* dan (b) *spread plate count*. Untuk *pour plate count*, penuangan media pertumbuhan pada cawan Petri dilakukan setelah bakteri diletakkan. Sedangkan metode *spread plate count* dilakukan dengan cara menyebarkan bakteri di atas permukaan medium pertumbuhan. Hasil akhirnya sedikit berbeda. Untuk metode *pour plate count*, bakteri akan tumbuh pada permukaan dan di dalam medium pertumbuhan, sedangkan pada metode *spread plate count*, bakteri akan tumbuh di permukaan medium pertumbuhan (Gambar 10).



Gambar 10. Metode *pour plate count* (a) dan *streak plate count* (b) menghasilkan tempat pertumbuhan bakteri yang berbeda.

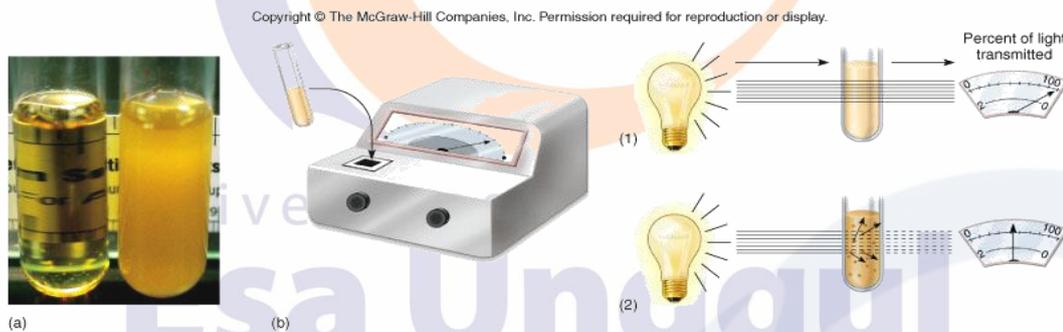
Penghitungan bakteri lainnya adalah dengan alat *colony counter*. Cawan Petri dengan beberapa koloni bakteri diletakkan pada mesin Colony Counter. Mesin ini dilengkapi dengan kaca pembesar dan beberapa garis pembantu sehingga dapat terlihat dengan jelas berapa koloni yang terbentuk. Penghitungan koloni ini dapat digunakan untuk menghitung jumlah bakteri dengan satuan *colony forming unit* (cfu).



Gambar 11. Alat *colony counter* (kiri) dan cara menggunakannya (kanan).

Pengukuran jumlah sel mikroba lainnya yaitu dengan mengukur berat kering dari suatu mikroba, seperti bakteri. Hal yang harus dipersiapkan adalah kultur cair bakteri pada volume tertentu. Kemudian kultur ini disentrifugasi sehingga terbentuk supernatant dan pellet yang berupa sel-sel bakteri. Supernatant dibuang, sehingga hanya tersisa pellet dan kemudian dikeringkan dengan suhu 80°C selama 24 jam atau pada 110°C selama 8 jam. Setelah kering, pellet ini kemudian ditimbang.

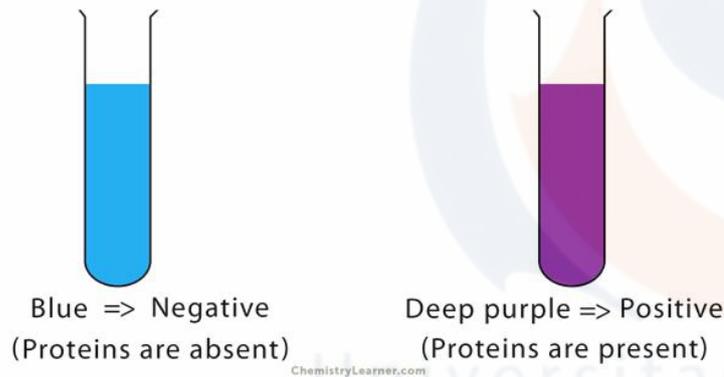
Kekeruhan medium kultur bakteri juga dapat digunakan untuk menghitung jumlah sel bakteri. Untuk metode ini diperlukan alat spektrofotometer yang dapat meneruskan cahaya, melewati tabung yang berisi kultur bakteri kemudian menyerap cahaya yang diteruskan, sehingga akan terukur seberapa pekat kultur bakterinya. Semakin pekat suatu cairan kultur, maka semakin sedikit cahaya yang diteruskan (atau semakin banyak sinar yang diserap/di-absorb), berarti juga semakin banyak bakteri yang ada di dalam medium kultur. Sehingga dalam pengukuran ini dikenal adanya istilah *Optical Density* atau nilai absorbansi. Kepekatan larutan kultur ini kemudian dihitung dengan perhitungan tertentu dan akan dihasilkan perkiraan jumlah bakteri yang ada di dalam larutan kultur.



Gambar 12. Pengukuran jumlah sel dengan spektrofotometer. Jika terdapat dua jenis medium kultur bakteri (a) diukur dengan spektrofotometer (b), maka cairan kultur yang bening akan menghasilkan nilai cahaya yang ditransmisikan tinggi atau absorbansi rendah (1), sebaliknya jika medium kultur pekat, maka cahaya yang ditransmisikan rendah atau absorbansi tinggi (2).

Komponen sel juga dapat digunakan dalam pengukuran pertumbuhan sel mikroba. Pada proses pertumbuhan, beberapa komponen sel akan berubah. Oleh karena itu bisa dilakukan analisis pertumbuhan sel mikroba. Komponen sel yang bisa digunakan adalah protein. Hal ini bisa dilakukan dengan uji buret (biuret), Kjeldahl nitrogen, dan lain-lain.

# Biuret Test Result



Gambar 13. Uji biuret untuk mendeteksi keberadaan protein dalam suatu larutan.

Mikroba yang ditumbuhkan dapat juga tidak dapat bertumbuh secara optimal seperti yang diharapkan. Hal ini terjadi karena beberapa faktor, antara lain:

- Kekurangan nutrisi.
- Populasi mikroba yang terlalu padat dalam suatu medium.
- Akumulasi hasil metabolisme yang tidak beracun bagi mikroba.
- Kekurangan oksigen.
- Perubahan pH.
- Suhu lingkungan yang tidak optimal untuk pertumbuhan mikroba.

## C. Latihan

- Ada berapa fase pertumbuhan bakteri yang ditumbuhkan di medium?
- Hal-hal apa sajakah yang mempengaruhi pertumbuhan sel?
- Kelompok mikroba yang menggunakan  $\text{CO}_2$  sebagai sumber karbon disebut dengan mikroba....

## D. Kunci Jawaban

- Ada 4 fase, yaitu fase lag dimana bakteri masih melakukan penyesuaian dengan media pertumbuhan, fase log dimana pertumbuhan bakteri

terjadi secara optimal, fase stasioner ketika pertumbuhan bakteri melambat dan fase kematian ketika banyak sel yang mati.

- b. Keberadaan nutrisi dan faktor-faktor lingkungan lain seperti suhu, pH dan lain-lain.
- c. Autotrof.

#### **E. Daftar Pustaka**

1. Hidayat, N., Padaga, M.C. & Suhartini, S. (2006). *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta. Penerbit ANDI.
2. Smith, E.E. (2009). *Biotechnology*. Cambridge. Cambridge University Press.
3. Waites, M.J., Morgan, N.L., Rockey, J.S & Higton, G. (2001). *Industrial Microbiology: An Introduction*. London. Blackwell Science.
4. Sumber-sumber dari internet.