

## **PERTUMBUHAN DAN PENGENDALIAN MIKROORGANISME I**

**TPU:** Mahasiswa dapat memahami pengertian pertumbuhan, syarat pertumbuhan, macam-macam media pertumbuhan dan teknik pewarnaan dan pengamatan mikroorganisme.

### **TPK:**

- Melalui kegiatan diskusi mahasiswa dapat menjelaskan definisi pertumbuhan mikroorganisme
- Melalui kegiatan diskusi mahasiswa dapat menjelaskan syarat-syarat pertumbuhan mikroorganisme
- Melalui kegiatan diskusi mahasiswa dapat mengelompokkan medium berdasarkan bentuk, susunan, dan sifat.
- Melalui kegiatan praktikum mahasiswa dapat membuat media KNA untuk pembiakan bakteri.
- Melalui kegiatan praktikum mahasiswa dapat membuat medium TA untuk pembiakan jamur.
- Melalui kegiatan praktikum mahasiswa dapat melakukan macam-macam sterilisasi
- Melalui kegiatan diskusi mahasiswa dapat membedakan macam-macam teknik pewarnaan dan pengamatan mikroorganisme

Setelah perkuliahan tentang pokok bahasan ini selesai, mahasiswa dapat :

1. menjelaskan definisi pertumbuhan
2. menjelaskan syarat-syarat pertumbuhan mikroorganisme
3. mengelompokkan medium berdasarkan bentuk, susunan, dan sifat.
4. membuat medium pertumbuhan mikroorganisme
5. melakukan macam-macam sterilisasi
6. membedakan macam-macam teknik pewarnaan

## A. DEFINISI PERTUMBUHAN MIKOORGANISME

Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup. Pada organisme multiseluler, pertumbuhan adalah peningkatan jumlah sel perorganisme, dimana ukuran sel juga menjadi lebih besar. Pada organisme uniseluler yang disebut pertumbuhan adalah penambahan jumlah sel, yang berarti juga penambahan jumlah organisme.

Umur suatu sel ditentukan setelah pembelahan sel selesai. Sedangkan umur kultur ditentukan dari waktu atau lamanya inkubasi.

Ukuran sel tergantung dari kecepatan pertumbuhan. Semakin baik zat nutrisi di dalam substratnya mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat.

## B. SYARAT-SYARAT PERTUMBUHAN MIKROORGANISME

Mikroorganisme untuk pertumbuhannya memerlukan nutrisi dan faktor lingkungan untuk kelangsungan hidupnya. Mikroorganisme memerlukan komponen-komponen tertentu untuk pertumbuhannya, yaitu :

1. **Energi**, mikroorganisme dapat dibedakan menjadi 2 kelompok berdasarkan kebutuhan energinya, yaitu : mikroorganisme **fototrof** dan **kemotrof**. Mikroorganisme fototrof menggunakan cahaya matahari sebagai sumber energinya, sedangkan mikroorganisme kemotrof sumber energi berasal dari oksidasi senyawa organik seperti glukosa atau senyawa anorganik seperti  $H_2S$  atau  $NaNO_2$ .
2. **Sumber karbon**, berdasarkan kebutuhan karbonnya mikroorganisme dapat dibedakan menjadi 2 kelompok, yaitu : mikroorganisme **autotrof** dan **heterotrof**. Mikroorganisme autotrof adalah mikroorganisme yang menggunakan karbon anorganik ( $CO_2$ ) sebagai sumber karbonnya, sedangkan mikroorganisme heterotrof memerlukan sumber karbon organik, misalnya glukosa.
3. **Sumber nitrogen**, mikroorganisme mengambil sumber N dalam bentuk gas nitrogen, amonium, garam nitrat atau berupa N dari senyawa organik (mis. asam amino)
4. **Elemen non metal**, terutama sulfur dan fosfor.
5. **Elemen metal**, terdiri dari  $Ca^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Na$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  dalam bentuk garam-garam anorganik. Ion-ion ini berperan penting dalam osmoregulasi, mengatur aktivitas enzim, dan transfer elektron.
6. **Vitamin**, penting dalam pertumbuhan sel dan diperlukan dalam jumlah sedikit. Juga berperan sebagai koenzim.
7. **Air**, semua sel memerlukan air dalam mediumnya sebagai pelarut, sehingga nutrisi dengan berat molekul rendah dapat melewati membran sel.

Medium pertumbuhan mikroorganisme, harus memenuhi persyaratan sebagai berikut :

1. Mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroorganisme
2. Mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan, dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba.
3. Media harus dalam keadaan steril, artinya sebelum ditanami mikroorganisme yang diinginkan, tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan.

### C. BENTUK, SUSUNAN, DAN SIFAT MEDIA

Bentuk, susunan, dan sifat media ditentukan oleh senyawa penyusun media, persentase campuran, dan tujuan penggunaan.

#### 1. Bentuk Media

Ditentukan oleh ada tidaknya penambahan zat pematat seperti agar-agar, gelatin, maka dikenal 3 bentuk media, yaitu media padat, media semi padat (semisolid), dan media cair.

- a) Media padat, memerlukan 12-15 g agar-agar untuk 1000 ml media. Media padat digunakan untuk menumbuhkan bakteri, ragi, dan jamur.
- b) Media cair, bila ke dalam medium tidak ditambahkan bahan pematat. Digunakan untuk membiakkan alga, bakteri, dan ragi.
- c) Media semipadat, penambahan zat pematat hanya 50 % atau kurang dari yang seharusnya. Untuk menumbuhkan mikroba yang memerlukan sedikit air dan hidup anaerobik atau fakultatif.

#### 2. Susunan Media

Susunan media dapat berbentuk :

- d) Media alami, adalah media yang disusun oleh bahan-bahan alami seperti kentang, nasi, telur, daging, roti, dsb. Kentang, roti dan nasi biasanya digunakan untuk menumbuhkan kapang, sedangkan telur untuk menumbuhkan virus.
- e) Media sintesis, adalah media yang disusun oleh senyawa kimia, misalnya Czapek Dox Agar (jamur), Nitrogen free manitol broth (Azotobacter).
- f) Media semisintesis, yaitu media yang tersusun oleh campuran bahan alami dan bahan sintesis, misalnya KNA, PDA, touge agar, dsb.

#### 3. Sifat Media

Penggunaan media bukan hanya untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroba, tetapi juga untuk tujuan-tujuan lain, misalnya untuk isolasi, seleksi, diferensiasi dsb. Berdasarkan sifatnya, media dapat dibedakan menjadi :

- g) Media umum, adalah media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan satu atau lebih kelompok mikroba secara umum, seperti KNA dan PDA.
- h) Media pengaya, kalau media tersebut digunakan untuk memberi kesempatan terhadap suatu jenis/kelompok mikroba untuk tumbuh dan berkembang lebih cepat dari yang lainnya yang bersama-sama dalam suatu sampel. Misalnya pada media kaldu selenit/kaldu tetrathionat dalam waktu 18-22 jam mikroba lain akan terhambat/terhenti pertumbuhannya sedangkan *Salmonella* akan tetap tumbuh.
- i) Media selektif, adalah media yang hanya dapat ditumbuhi oleh satu atau lebih mikroorganisme tertentu, tetapi akan menghambat/mematikan jenis lainnya. Misalnya media SS agar untuk *Salmonella* dan *Shigella*, media EMB agar untuk Coliform.
- j) Media diferensial, yaitu media yang digunakan untuk menumbuhkan mikroba tertentu serta penentuan sifat-sifatnya. Misalnya media EMB agar untuk Coliform, media agar darah untuk menumbuhkan bakteri hemolitik.
- k) Media penguji, yaitu media yang digunakan untuk pengujian senyawa atau benda-benda tertentu dengan bantuan mikroba.

#### **D. TEKNIK PEWARNAAN DAN PENGAMATAN MIKROORGANISME**

Tidak semua mikroorganisme mempunyai zat warna. Mikroorganisme yang tidak berwarna dapat ditembus cahaya, sehingga sukar diamati. Oleh karena itu diperlukan pewarnaan.

Tujuan pewarnaan terhadap mikroorganisme ialah untuk :

1. mempermudah melihat bentuk jasad, baik bakteri, ragi, maupun fungi.
2. memperjelas ukuran dan bentuk jasad
3. melihat struktur luar dan kalau memungkinkan struktur dalam jasad.
4. melihat reaksi jasad terhadap pewarna yang diberikan sehingga sifat-sifat fisik dan kimia dapat diketahui.

Langkah-langkah utama teknik pewarnaan

1. Pembuatan olesan bakteri, olesan bakteri tidak boleh terlalu tebal atau tipis
2. Fiksasi, dapat dilakukan secara pemanasan atau dengan aplikasi bahan kimia seperti sabun, formalin, fenol.
3. Aplikasi zat warna : tunggal, atau lebih dari 1 zat warna

Teknik pewarnaan bakteri, dapat dibedakan menjadi :

1. Pewarnaan Sederhana (1 zat warna) untuk melihat bentuk dan susunan sel
2. Pewarnaan Diferensial (lebih dari 1 zat warna) untuk melihat bentuk, susunan dan sifat sel. Beberapa contoh pewarnaan diferensial :
  - (a) Pewarnaan Gram → dinding sel
  - (b) Pewarnaan Tahan Asam → dinding sel
  - (c) Pewarnaan untuk melihat Struktur *flagel, kapsul, spora, Inti*

#### **PEWARNAAN SEDERHANA**

Berdasarkan asam-basa dari zat warna

Asam (-) : Eosin, Nigrosin, Merah Kongo

Basa (+) : Met. Biru, Safranin, Kristal Violet

pH ~ 7 → Sel Bakteri (-)

#### **SIFAT ZAT WARNA :**

1. PEWARNAAN ASAM (pewarnaan negatif / tidak langsung) : Sel tidak terwarnai, latar belakang terwarnai
2. PEWARNAAN BASA (pewarnaan langsung) : sel terwarnai

#### **PEWARNAAN GRAM (C. Gram, 1884)**

Prinsip : Kemampuan dinding sel mengikat zat warna karena perbedaan sifat kimia dan fisika dinding sel

Empat tahapan perwarnaan gram :

1. Pemberiaan pewarna dasar kristal violet, semua sel ungu
2. Pemberian pewarna penguat (mordan) lugol/iodine, terbentuk kompleks cv-i, sel ungu tua
3. Pencuci warna dasar : alkohol 96 %

**gram +** : lipid << + alkohol 96% ----->  
pori dinding sel yang terbentuk kecil, protein dinding sel terdehidrasi, pori tertutup

*kompleks cv-i tidak tercuci*

**Gram -** : lipid >> + alkohol 96% ----->  
pori dinding sel yang terbentuk besar, protein dinding sel terdehidrasi, pori tidak tertutup

*kompleks cv-i tercuci*

4. Pewarna pembanding : menggantikan warna dasar, safranin  
gram - : berwarna (merah)  
gram +: tidak berwarna

### **Pewarnaan tahan asam**

Mewarnai genus *mycobacterium*, spesies spesies tertentu dari genus *nocardia*

Prinsip : zat lipoid dinding sel bakteri-bakteri di atas tebal , sulit ditembus zat warna, tetapi sudah terwarnai sulit dicuci dengan etanol

Tahapan :

1. Warna dasar : karbol fuchsin + pemanasan
2. Pencucian : alkohol asam ( 3% hcl dalam 95% etanol)
3. Pembanding : metilen biru  
hasil : *Mycobacterium* dan *Nocardia* berwarna merah  
bakteri lain biru

Pewarnaan flagel : - tidak difiksasi panas  
- flagel mordant, karbol fuchsin  
- flagel merah

Pewarnaan spora : - zat warna dasar malakit hijau  
- pembanding safranin  
- endospora berwarna hijau, sel vegetatif berwarna merah

Pewarnaan kapsul : - tidak difiksasi panas  
- pewarna dasar : kristal violet  
- pencuci, pembanding : CuSO<sub>4</sub>  
- sel berwarna violet , kapsul berwarna biru muda.

### **Pengamatan mikroorganisme**

Jarak lensa-objek : 10 x 10 5,00 mm  
40 x 10 0,46 mm  
100 x 10 0,13 mm

Pada pengamatan bakteri, jarak lensa-objek sangat dekat, udara n=1,0 tidak dapat membiaskan cahaya masuk ke lensa. Akibatnya objek tidak dapat terlihat dengan sempurna atau sama sekali tidak terlihat . Supaya cahaya dapat dibiaskan ke

lensa, perlu media yang indeks biasanya sama dengan objek gelas ( $n = 1,52$ ), yaitu minyak imersi ( $n = 1,52$ )

**Latihan soal :**

1. Bagaimanakah persyaratan nutrisi bagi pertumbuhan bakteri? Unsur-unsur apakah yang dibutuhkannya? Apa fungsi setiap unsur tersebut?
2. Bagaimanakah klasifikasi medium pertumbuhan bakteri? Berikan beberapa contoh medium pertumbuhan bakteri?
3. Apa fungsi pewarnaan pada bakteri? Sebutkan tahapan-tahapan pada pewarnaan Gram?

**Daftar Pustaka**

- Black, Jacquelyn G. 2002. *Microbiology*. John Wiley & Sons, Inc.
- Brock. TD. Madiqan. MT. 1991. *Biology of Microorganisms*. Sixth ed. Prentice-Hall International, Inc.
- Cappuccino, JG. & Sherman, N. 1987. *Microbiology: A Laboratory Manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Case, C.L. & Johnson, T.R. 1984. *Laboratory Experiments in Microbiology*. Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Fardiaz, S. 1987. *Fisiologi Fermentasi*, PAU IPB.
- Kusnadi, dkk. 2003. *Mikrobiologi (Common Teksbook)*. Biologi FPMIPA UPI, IMSTEP.
- Moat, A.G. & Foster, J.W. 1979. *Microbial Physiology*. John Wiley & Sons
- Nicklin. J.K. Graeme-Cook. T. Paget & R. Killington. 1999. *Instans Notes in Microbiology*. Springer Verlag. Singapore Pte, Ltd.
- Tortora Gerard J. et al. 1992. *Microbiology an Introduction*. Fourth Ed. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc.