

Pengadaan Buku Ajar
No. 067/PUNP/2000

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

MIKROBIOLOGI



MILIK PERPUSTAKAAN UNIV. NEGERI PADANG	
DITERIMA TGL. :	4-1-2000
SUMBER/HARGA :	Hd 1
KOLEKSI :	K1
NO. INVENTARIS :	3312/IC/2000-m ₂ (48)
KLASIFIKASI :	

Oleh :

1. Dra. Heffi Alberida, M.Si
2. Dra. Linda Advinda, M.Kes

Editor :

Drs. H. A. Dt. Bungsu Nan Gadang, M.Pd

**FAK. MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG**

DIP Universitas Negeri Padang

Nomor : 071/XXIII/008/4/--/1999

Tanggal : 1 April 1999

KATA PENGANTAR

Syukur Alhamdulillah, kami ucapkan ke hadirat Allah SWT. Berkat rahmat dan hidayahNya, kami telah dapat menyelesaikan buku ajar dengan judul "Mikrobiologi". Buku ajar ini dibuat disesuaikan dengan kebutuhan mahasiswa dan silabus yang telah disusun bersama oleh tim mikrobiologi FMIPA UNP. Namun pada bab 1 materi yang dibahas hanya bakteri sedangkan alga, fungi dan protozoa tidak diberikan dengan anggapan materi ini telah diberikan secara mendalam pada mata kuliah lain sebelumnya.

Terwujudnya buku ajar ini, berkat bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu kami mengucapkan terima kasih kepada:

1. Rektor Universitas Negeri Padang, yang telah membantu dalam pendanaan buku ajar ini.
2. Bapak Drs. H. A. Dt. Bungsu Nan Gadang, M.Pd sebagai editor.
3. Teman-teman sejawat dari staf pengajar Jurusan Biologi FMIPA UNP yang telah memberi saran dan kritikan yang konstruktif untuk perbaikan buku ajar ini.

Kami menyadari, bahwa buku ajar ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu kami sangat mengharapkan kritikan dan saran yang konstruktif untuk kesempurnaan buku ajar ini di masa mendatang

Padang, Februari 2000

Penulis

DAFTAR ISI

	halaman
KATA PENGANTAR	i
DAFTAR ISI	ii
GAFTAR GAMBAR	iv
BAB I DUNIA MIKROBA (BAKTERI)	
A. Tujuan Khusus Perkuliahan	3
B. Pendahuluan	3
C. Materi	4
D. Rangkuman	29
E. Evaluasi	30
BAB II NUTRISI	30
A. Tujuan Khusus Perkuliahan	30
B. Pendahuluan	31
C. Materi	39
D. Rangkuman	40
E. Evaluasi	
BAB III PERTUMBUHAN	
A. Tujuan Khusus Perkuliahan	
B. Pendahuluan	41
C. Materi	41
D. Rangkuman	42
E. Evaluasi	50
	51

BAB IV METABOLISME	
A. Tujuan Khusus Perkuliahan	52
B. Pendahuluan	52
C. Materi	53
D. Rangkuman	75
E. Evaluasi	75
BAB V GENETIKA MIKROBA	
A. Tujuan Khusus Perkuliahan	77
B. Pendahuluan	77
C. Materi	78
D. Rangkuman	109
E. Evaluasi	110
DAFTAR BACAAN	112

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	: Karakteristik struktur sel bakteri serta pola-pola penataannya	6
Gambar 2	: Struktur sel Bakteri	7
Gambar 3	: Perbandingan Appendiks pada Permukaan Sel Bakteri	11
Gambar 4	: Gula Amino yang dijumpai pada dinding sel bakteri	13
Gambar 5	: Struktur peptidoglikan	14
Gambar 6	: Perbandingan dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif	15
Gambar 7	: Aksi lisozin terhadap dinding sel bakteri Gram positif	16
Gambar 8	: Beda kerja lisozim dengan penisilin dalam memutuskan ikatan peptidoglikan	17
Gambar 9	: Struktur bakteri fotosintetik	22
Gambar 10	: Tahap sporulasi bakteri	25
Gambar 11	: Kurva pertumbuhan bakteri	44
Gambar 12	: Glikolisis dari lintasan Embden-Meyerhoff	55
Gambar 13	: Siklus Krebs	56
Gambar 14	: Fosforilasi Oksidatif	59
Gambar 15	: Metabolisme asam amino dan lemak	63
Gambar 16	: Aktivasi enzim dengan hidrolisis pada peptida tertentu	72
Gambar 17	: Lokasi DNA dalam sel bakteri dan struktur kimia DNA	80
Gambar 18	: Replikasi DNA kromosom bakteri yang berbentuk sirkuler	81
Gambar 19	: Mutasi pergeseran Kerangka	84
Gambar 20	: Struktur kimia 5 bromouracil, adenin dan guanin	86
Gambar 21	: Skema proses mutasi dan ekspresi gen	88
Gambar 22	: Prosedur cawan replika yang ditemukan Joshua dan Ederberg	90
Gambar 22	: Teknik cawan replika	91
Gambar 23	: Seleksi mutan	92
Gambar 24	: Uji Ames untuk melihat kemampuan mutagenitas	94
Gambar 25	: Eksperimen Friffith	97
Gambar 26	: Percobaan Tatum dan Lederberg tentang konjugasi bakteri	99
Gambar 27	: Mekanisme konyugasi bakteri F ⁺ dan F ⁻	100

Gambar 28	: Mekanisme konyugasi antara bakteri Hfr dengan bakteri F ⁻	101
Gambar 29	: Struktur bakteri F ⁺ , F ⁻ , F' dan Hfr	102
Gambar 30	: Mekanisme terjadinya transduksi	104
Gambar 31	: Plasmid dalam sel bakteri dibandingkan dengan kromosom	105
Gambar 32	: Transfer plasmid melalui konjugasi pada sel bakteri	106

BAB I

DUNIA MIKROBA (BAKTERI)

A. Tujuan Khusus Perkuliahan

Setelah perkuliahan ini selesai, saudara diharapkan mampu:

1. Menjelaskan ukuran bakteri dan organisasi sekuler bakteri
2. Menjelaskan struktur dan fungsi komponen pembangun sel bakteri
3. Membandingkan secara biokimia, struktur maupun fungsi alat-alat pembangun sel prokariota dengan mikroba lainnya seperti: algae, fungi, protozoa dan virus.
4. Menjelaskan tentang: a) Pili, b) Mesosoma, c) Flagel, d) Plasmid, e) Kapsul, f) Sporulasi, g) Endospora, h) Konidia, i) Kesta, j) Heterokista.

B. Pendahuluan

Makhluk hidup pada mulanya hanya dikelompokkan atas tumbuhan dan hewan. Namun semakin lama pengelompokan ini semakin butuh pencocokan sesuai dengan data-data yang ditemukan kemudian, karena ada tumbuhan yang menunjukkan ciri-ciri hewan atau sebaliknya, apalagi semenjak Leewenhoek menemukan bakteri. Maka Haeckel menambahkan dunia protista disamping hewan dan tumbuhan. Protista meliputi organisme uniseluler yang mencakup bakteri, algae, jamur dan protozoa. Bakteri termasuk protista tingkat rendah sedangkan yang lainnya protista tingkat tinggi. Namun belakangan yang termasuk protista tingkat rendah adalah organisme uniseluler yang prokariotik, sedangkan protista tingkat tinggi memiliki sel eukariotik.

Klasifikasi terbaru dikemukakan Whittaker (1969) membagi makhluk hidup atas 5 kelompok yaitu: monera, protista, hewan, tumbuhan dan jamur tingkat tinggi.

Monera meliputi bakteri termasuk algae hijau-biru (sianobakteria). Protista meliputi algae, protozoa, dan jamur mikroskopik (kamir dan kapang).

Dalam mikrobiologi (ilmu tentang mikroba), yang dibahas adalah dunia monera dan protista menurut Whittaker yaitu bakteri, algae, protozoa dan jamur. Untuk saat ini orang memasukkan virus ke dalam bahasan mikrobiologi, mengingat virus memegang peranan penting dalam kehidupan serta sifatnya yang unik, walaupun menurut Haeckel dan Whittaker virus tidak termasuk kelompok organisme seluler. Di dalam buku ini dunia mikroba hanya dibahas bakteri, karena dianggap algae, protozoa, dan jamur telah dibahas secara mendalam pada mata kuliah prasyarat sebelumnya.

Bakteri pertama kali diamati oleh Anthony van Leewenhoek, seorang yang mempunyai kegemaran mengasah lensa. Bakteri hidup menyebar di alam ini, mereka ditemukan di udara, air, tanah bahkan pada bagian tubuh makhluk hidup. Sekarang telah ditemukan lebih dari 1700 spesies. Ketersediaan nutrien, suhu yang sesuai serta keberadaan bahan toksik merupakan efek dari aktifitas serta penentu kelangsungan hidup bakteri serta mikroba lainnya. Bab ini akan membahas organisasi struktural dari bakteri.

Sel bakteri dibedakan berdasarkan morfologi kasar, seperti ukuran, bentuk, pola penataan, serta ultra struktur. Banyak peralatan (komponen) penting yang ditemukan pada spesies bakteri tertentu dan ini berkaitan dengan struktur intracell dan fungsinya bagi organisme yang bersangkutan.

1. Ukuran Bakteri

Ukuran bakteri sangat beragam, tergantung pada spesies dan fase pertumbuhannya. Ukuran bakteri dinyatakan dengan satuan mikrometer (μm), $1 \mu\text{m} = 0.001 \text{ mm}$.

Bakteri yang bisa diamati dengan mikroskop cahaya berdiameter antara $0,5-1,0 \mu\text{m}$ dan panjang antara $2,0-5,0 \mu\text{m}$. Bakteri penyebab penyakit pada umumnya berdiameter antara $0,2-1,2 \mu\text{m}$ dan panjang antara $0,4-14 \mu\text{m}$ (Wistreich, 1980). Bila dibandingkan dengan sel hewan atau tumbuhan, maka bakteri kira-kira sama besar dengan mitokondria pada sebuah sel.

Bakteri yang berukuran paling kecil adalah mikoplasma, bakteri ini hampir tidak kelihatan dengan mikroskop cahaya. Sulitnya mengamati mikoplasma juga disebabkan karena sifatnya yang *pleomorfik*, artinya memiliki morfologi yang amat beragam. Mikoplasma berukuran antara $0,1-0,3 \mu\text{m}$.

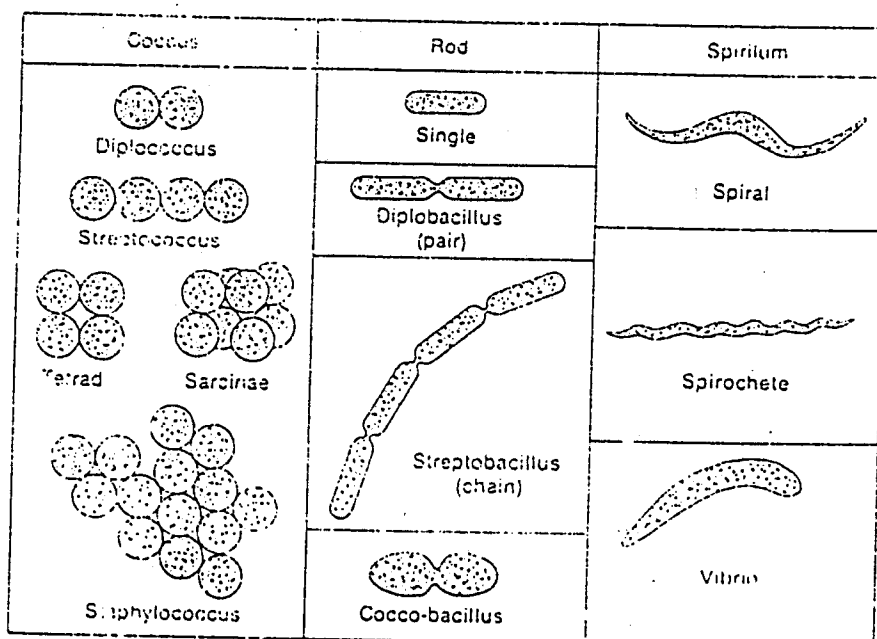
2. Bentuk dan Pola Penataan Bakteri

Bakteri memiliki 3 bentuk, yaitu seperti bola, batang, atau lengkung koma. Bakteri berbentuk bola (kokus tunggal) dapat ditemukan dalam berbagai pola penataan seperti: a) Diplokokus: bakteri yang dua kokus dan selalu berpasangan, b) Streptokokus: bakteri kokus yang berderet-deret membentuk rantai, c) Tetrakokus: struktur yang terdiri dari empat kokus yang tersusun dalam bentuk bujur sangkar. d) Sarcinae: struktur yang terdiri dari 8 kokus yang tersusun dalam bentuk kubus. e) Stafilokokus: kelompok bakteri yang tertata seperti buah anggur.

Bakteri berbentuk batang atau basil (basilus-tunggal), bakteri ini dapat dibedakan lagi ke dalam bentuk batang panjang dan batang pendek dengan ujung datar atau lengkung. Sel-selnya bisa tunggal, ganda (diplobasil) atau berbentuk rantai (streptobasil).

Bakteri berbentuk lengkung dapat dibedakan atas 2 yaitu, bentuk koma (vibrio) bila lengkungnya kurang dari setengah lingkaran, dan bentuk spiral bila lengkungnya lebih dari setengah lingkaran. Jika spiralnya halus dan lentur disebut *spirochaeta* dan jika spiralnya tebal dan kaku disebut *spirillum*.

Bagaimana bentuk dan penataan bakteri dapat dilihat pada gambar 1 berikut.



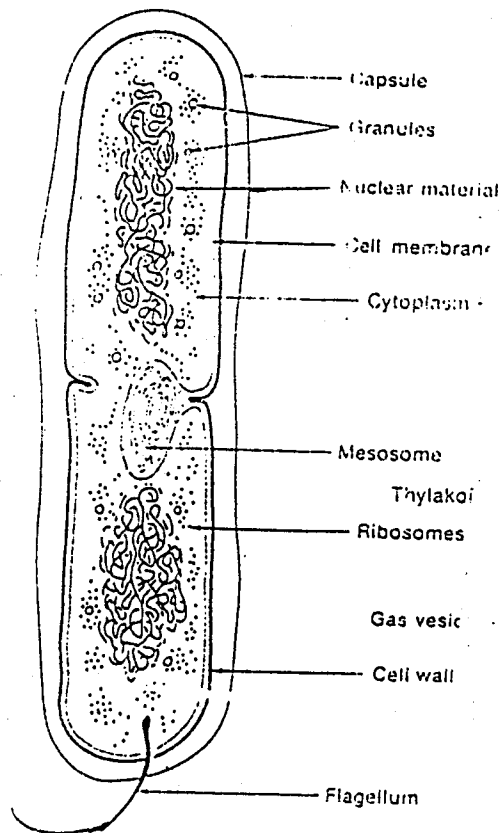
Gambar 1. Karakteristik struktur sel bakteri serta pola-pola penataannya (Wistreich, 1980:118)

Bentuk bakteri dipengaruhi oleh umur dan syarat pertumbuhan tertentu. Pada bakteri dikenal bentuk *involuti*, bentuk yang disebabkan oleh faktor lingkungan yang tidak menguntungkan. Contohnya involusi pada bakteri *Acetobacter sp*, yang

bisa berbentuk gada, berbentuk benang atau tidak beraturan. Bentuk-bentuk ini disebabkan oleh faktor nutrisi, suhu dan lingkungan lain yang kurang sesuai bagi bakteri. Selain bentuk involusi juga dikenal bentuk *pleomorfik* seperti pada *mikoplasma*, yaitu bentuk yang bermacam-macam pada suatu bakteri, walaupun ditumbuhkan pada medium yang sesuai. Contohnya: *Corynebacterium diphtheriae*, bentuk selnya dapat berubah ke bentuk lain walau ditumbuhkan pada medium yang sama.

3. Struktur dan Fungsi

Dengan berbagai prosedur mikroskopis modern, para ahli berhasil menyibak ultrastruktur sel bakteri, baik struktur di luar dinding sel, struktur dinding sel, serta struktur sel dan sitoplasma. Struktur pembangun sel bakteri dapat dilihat pada Gb 2.



Gambar 2. Struktur sel bakteri (Wistreich, 1980:119)

a. Struktur di luar dinding sel

Komponen bakteri yang berada di luar dinding sel meliputi flagel, pili, duri (spinae), kapsul dan lendir, serta selongsong.

1). Flagel

Flagel merupakan struktur seperti rambut yang teramat tipis muncul di permukaan sel bakteri. Tidak semua bakteri punya flagel. Flagel bisa ditemui pada bakteri berbentuk basil dan spiral, dan jarang pada yang berbentuk kokus. Flagel (flagelum-tunggal) berperan dalam pergerakan (motilitas) bakteri. Pergerakan bakteri ini dapat diamati dari pola yang terbentuk dalam medium semi padat. Pergerakan bakteri satu dengan yang lain tidak sama. Pergerakan bakteri bisa dipakai sebagai alat untuk identifikasi, dengan cara yang disebut *Brownian movement* (Wistreich, 1980). Flagel tidak berkaitan dengan fisiologi bakteri.

Ukuran dan tata letak flagel.

Ketebalan flagel bervariasi dari satu spesies ke spesies lainnya, berkisar antara 12-15 nm, dan ukuran jauh lebih tipis dari flagel protozoa. Dilihat dari pola tata letak flagel, bakteri dibedakan atas *atrikus*, untuk bakteri yang tidak punya flagel, *monotrikus*, untuk bakteri yang punya satu flagel, *lofotrikus*, untuk bakteri yang punya beberapa flagel pada salah satu ujungnya, *petitrikus*, untuk kelompok bakteri yang sel-nya dikelilingi oleh banyak flagel, serta *amfitrikus* untuk bakteri yang kedua ujungnya memiliki flagel lebih dari satu.

Ultra struktur flagel.

Flagel bakteri jauh lebih tipis dari silia sel hewan ataupun silia protozoa. Diameter flagel dari dasar sampai ke ujungnya relatif sama. Flagel muncul dari basal granul (basal body), yang berada tepat di bawah membran plasma, dan menembus dinding sel. Flagel terdiri dari 3 bagian yaitu: tubuh dasar, struktur seperti kait, serta filamen panjang di luar dinding sel. Flagel bukan merupakan bagian dari dinding sel, dipercaya bahwa flagel berasal dari sitoplasma. Flagel terdiri dari 3 serat protein paralel yang membentuk triple helikal. Protein serat ini disebut *flagellin*.

Fungsi flagel.

- a) Untuk berpindah, baik mendekat atau menjauhi suatu lingkungan yang sesuai atau yang membahayakan.
- b) Flagel dapat meningkatkan nutrien, atau menurunkan konsentrasi racun berbahaya di sekitar sel dengan merubah kondisi substrat.
- c) Bagi bakteri patogen flagel berguna untuk memudahkan penetrasi ke sel inang dengan menghilangkan barrier penghalang seperti sekresi mukosa dan lain-lain.

2) Pili (Fimbriae)

Pili merupakan filamen permukaan yang bervariasi dalam diameter maupun panjang. Pili bisa diamati dengan mikroskop elektron, pewarnaan negatif atau

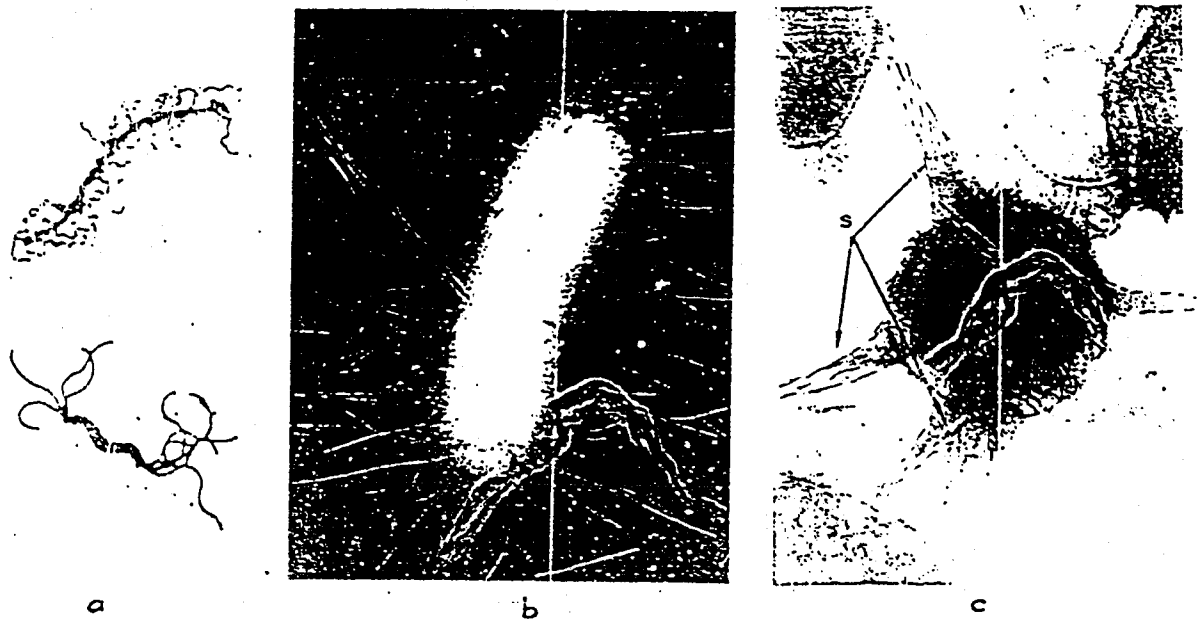
dengan test hemaglutinasi, walaupun tidak semua hemaglutinasi menandakan adanya pili. Pili berukuran lebih kecil, lebih pendek dan lebih banyak dari flagel. Pili dibentuk oleh protein yang disebut *pilin*. Pili pertama kali dilaporkan dijumpai pada bakteri Gram-negatif seperti, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *Pseudomonas*, *Shigella* dan *Vibrio*. Namun akhir-akhir ini pili juga ditemukan pada bakteri Gram-positif seperti pada *Corynebacterium renale*.

Fungsi Pili

- a) untuk menempel pada berbagai permukaan, substrat, sel dan lain-lain.
- b) penghubung dua bakteri untuk mentransfer DNA dari yang satu ke yang lainnya (seperti pada pilus F/pilus seks)
- c) membentuk film pada permukaan substrat bila O₂ terbatas dan pili digunakan untuk berikatan antara satu sel dengan sel lainnya.
- d) sebagai reseptor pengenal untuk bakterial virus

3) Duri (Spinae)

Beberapa bakteri Gram-negatif yang hidup di laut memiliki appendiks yang tidak biasa berupa duri (spinae). Alat ini muncul dari permukaan dinding sel, dan fungsinya belum diketahui. Gambar 3 memperlihatkan bakteri yang memiliki: a) flagel, b) pili, dan c) duri (spinae).



Gambar 3: Perbandingan appendiks pada permukaan sel bakteri.

a) Bakteri dengan flagel, b) bakteri yang memiliki pili dan c) bakteri yang memiliki duri (spinae) (Wistreich, 1980: 120-122)

4) Kapsul

Kapsul merupakan akumulasi dari materi berbentuk lendir (gelatinous) pada permukaan dinding sel. Ada tidaknya kapsul pada bakteri dapat dilihat dari koloninya. Bila jarum inokulasi disentuh pada koloni lalu diangkat, maka akan ikut terbawa lendir yang membentuk benang halus. Pada substrat cair, bakteri berkapsul menyebabkan kekentalan substrat bertambah dan menyebabkan substrat berlendir.

Bila diamati di bawah mikroskop, kapsul merupakan bagian yang tidak menyerap warna di sekitar sel-sel bakteri. Kapsul ada yang tipis, ada yang sangat tebal tergantung pada jenis bakterinya.

Kapsul terdiri dari polisakarida kompleks yang kadang-kadang mengandung *musin* dan polipeptida.

Produksi kapsul penting artinya bagi bakteri patogen, dan menentukan kapasitasnya dalam menimbulkan penyakit. Kapsul merupakan pelindung bakteri yang mencegah terjadinya fagositosis dan mencegah munculnya anti bakterial dari tubuh inang (host). Bila kapsul suatu bakteri hilang, maka hal ini diikuti dengan hilangnya sifat virulensinya. Berbagai penyakit terbukti disebabkan oleh bakteri yang mempunyai kapsul seperti *Bacillus anthracis* (penyebab antraks), *Clostridium perfringens* (penyebab gangrene) dan *Streptococcus pneumoniae* (penyebab pneumonia).

Bakteri membentuk kapsul dan lendir di samping ada yang patogen juga merugikan karena dapat menyumbat berbagai peralatan produksi di pabrik. Bakteri ini juga menyebabkan terbentuknya lendir pada pengolahan kertas yang akan menurunkan mutu produksi.

5) Selongsong (tubul)

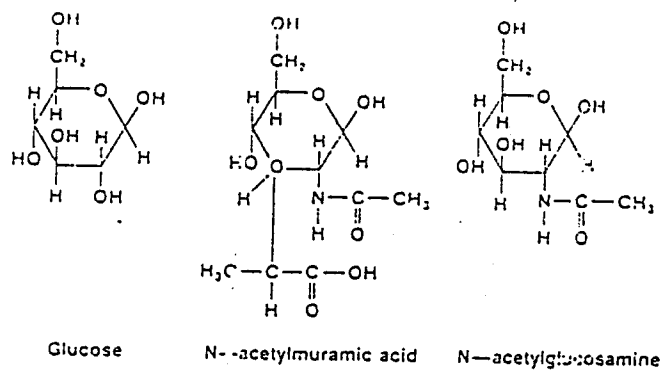
Selongsong biasanya merupakan akumulasi senyawa-senyawa logam yang tidak larut di sekitar bakteri. Senyawa-senyawa logam itu bisa berupa feri dan mangan oksida. Pada waktu tertentu bakteri akan melepaskan selongsongnya dengan cara ke luar pada salah satu ujung selongsong, lalu bakteri mulai membentuk selongsong baru. Begitu terus sehingga bekas-bekas selongsong ini berjejer seolah-olah membentuk filamen.

Bakteri berselongsong ditemukan pada perairan tawar atau asin yang tercemar oleh logam atau limbah organik lain.

b. Dinding Sel

Dinding sel bakteri memberikan bentuk tertentu pada sel bakteri. Dinding sel bersifat elastis, terletak antara kapsul dengan membran plasma. Hasil analisa menunjukkan terdapat perbedaan susunan makromolekul dinding sel bakteri Gram-positif dengan bakteri Gram-negatif. Secara umum dinding sel bakteri terdiri dari:

- 1) Gula yang berupa N-asetilglukosamin (NAG) dan N-asetilmuramic acid (NAM) yang struktur kimianya dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Gula amino yang dijumpai pada dinding sel bakteri.

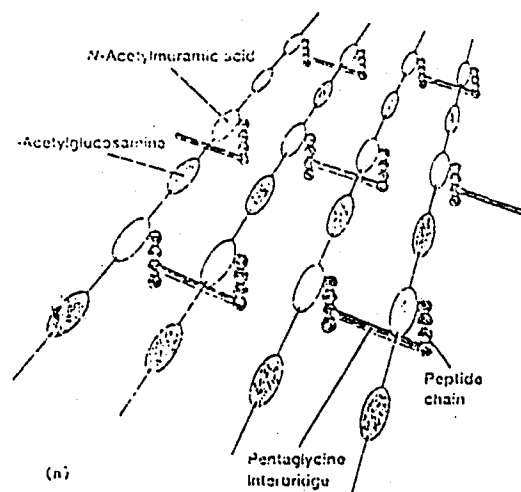
Gambar menunjukkan perbandingan antara glukosa dengan NAG dan NAM (Wistreich, 1980:125).

- 2) Asam amino. Asam amino spesifik yang ditemui pada dinding bakteri adalah glutamat, alanin, glisin, dan lisin. Komposisi Asam amino pada bakteri Gram-positif berbeda dengan Gram-negatif. 3) Dinding sel juga mengandung asam

amino yang tidak spesifik, yang berbeda dengan asam amino alanin lainnya.

4) Beberapa organisme dinding selnya mengandung asam diamino-pimelat (diamino pimelic acid).

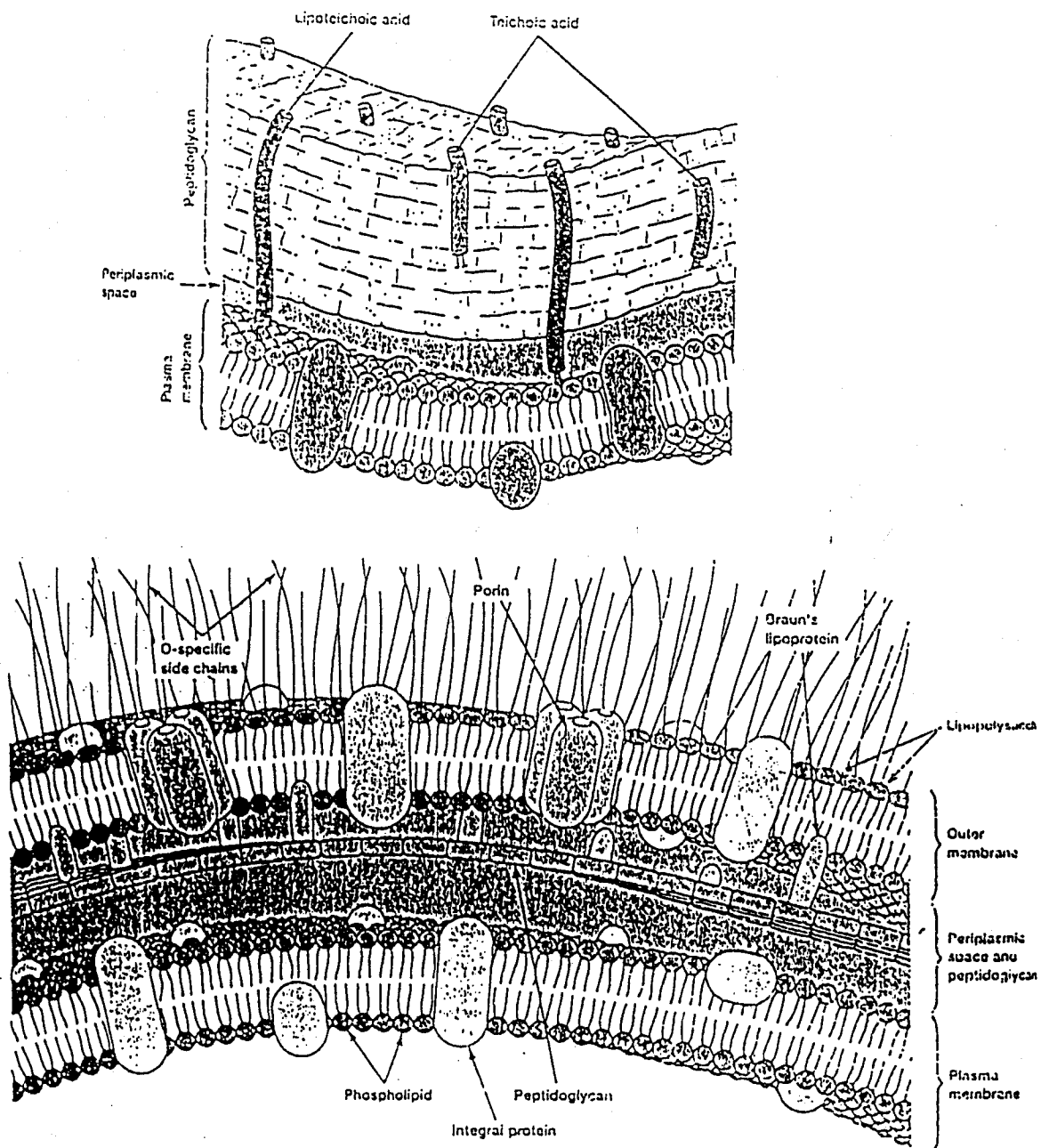
Tulang punggung dinding sel (mukokompleks) adalah polisakarida yang terdiri dari NAG dan NAM yang satu sama lainnya dihubungkan dengan ikatan glukosida. Bagaimana bentuk dinding sel bakteri (peptidoglikan) dapat dilihat skema pada gambar 5.



Gambar 5. Struktur peptidoglikan (Prescott et al, 1993: 51)

Pada bakteri Gram-negatif, peptidoglikannya lebih kompleks dan mengandung banyak asam amino, lipid, polisakarida, dan protein tertentu, bisa juga berupa kombinasi dari komponen tersebut (seperti: lipo protein, atau lipo polisakarida). Ada beberapa lapisan dinding sel bakteri Gram-negatif seperti pada *E. Coli*, peptidoglikan merupakan lapisan paling dalam dari dinding sel, sedangkan lapisan luar terdiri dari kompleks lipid - protein - polisakarida.

Sedangkan pada bakteri Gram-positif, dinding sel relatif lebih tipis. Pada bakteri ini terdapat polisakarida spesifik yang berasosiasi dengan dinding selnya, yaitu asam teikoat (teichoic acid). Perbandingan antara dinding sel bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif dapat dilihat pada gambar 6.

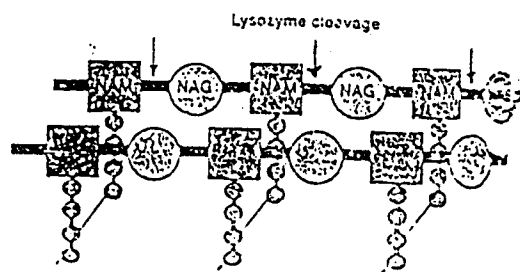


Gambar 6. Perbandingan dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif (Prescott et all, 1993: 54)

Bakteri tanpa dinding sel

Dinding sel bakteri dapat dirusak, tanpa merusak atau mengganggu selnya. Bakteri ternyata bisa hidup baik ada ataupun tidak ada dinding sel. Keadaan ini sangat penting artinya dalam dunia kedokteran.

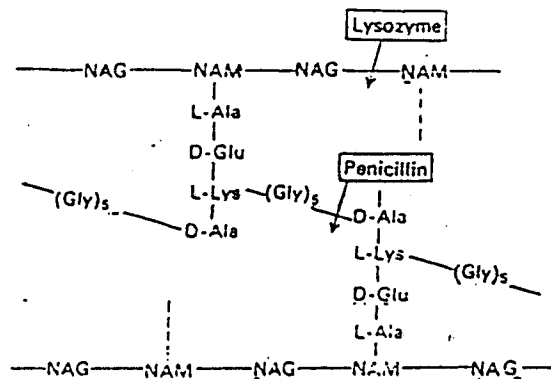
Peptidoglikan sebagai komponen dinding sel dapat dirusak oleh enzim. Enzim perusak peptidoglikan dikenal sebagai *lizozim* (muramidase). Enzim ini antara lain terdapat dalam air mata, putih telur, cairan servik, cairan prostate. Lizozim dapat menghidrolisis peptidoglikan menjadi bahan dengan berat molekul yang lebih kecil. Enzim ini memutus ikatan β 1-4 antara N-asetil glukosamin (NAG) dengan N-asetilmuramat (lihat gambar 7).



Gambar 7. Aksi lizozim terhadap dinding sel bakteri Gram-positif (Prescott, et al., 1993: 592).

Selain lizozim peptidoglikan juga bisa dirusak oleh antibiotik penisilin. Penisilin memutus ikatan antara pentaglisin dengan alanin. Perbandingan antara kerja lizozim dengan penisilin dapat dilihat pada gambar 8. Akibat kegiatan

lisozim maupun penisilin terhadap dinding sel sama saja, keduanya menyebabkan dinding sel rusak.



Gambar 8. Beda kerja lisozim dengan penisilin dalam memutuskan ikatan peptidoglikan (Dube, 1979:166)

Sehubungan dengan luasnya dinding sel yang dirusak, serta kemampuan bakteri untuk berproduksi, maka ada 3 (tiga) tipe bakteri yang tanpa dinding sel.

1) Protoplas

Protoplas adalah istilah untuk bakteri yang tidak memiliki dinding sel sama sekali. Protoplas kehilangan sifat untuk membentuk dinding selnya kembali. Protoplas terjadi akibat berbagai faktor seperti: adanya senyawa beracun (penisilin, sepalophorin) yang merusak dinding sel, tidak tersedianya nutrisi yang diperlukan untuk membentuk dinding sel, serta perlakuan menggunakan enzim-enzim yang merusak dinding sel (lisozim).

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

Protoplas berasal dari bakteri Gram-positif. Hal ini karena struktur dinding selnya yang lebih sederhana, sehingga enzim dan antibiotik dapat menyerang mukopeptida dan merusak semua dinding sel sehingga membentuk protoplas.

2) Sferoplas (Sphaeroplast)

Sferoplas adalah bakteri yang dinding selnya rusak sebagian. Sferoplas berasal dari bakteri Gram-negatif. Hal ini bisa dipahami karena dinding sel bakteri ini lebih kompleks yang terdiri dari lipoprotein dan lipopolisakarida di samping peptidoglikan. Karena itu dinding sel bakteri Gram-negatif lebih sulit untuk dihancurkan semuanya. Sferoplas bisa mensintesis dinding selnya kembali, bila faktor penyebab rusaknya dinding sel berkurang.

3) Bentuk L (L form)

L-form merupakan bakteri yang dinding selnya rusak sebagian atau seluruhnya, tetapi bakteri ini mampu memperbanyak diri atau bereproduksi.

Bentuk L bisa dihasilkan di laboratorium dari bakteri Gram-positif maupun Gram-negatif dengan perlakuan antibiotik. Caranya dengan meletakkan larutan penisilin di tengah-tengah biakan gores dalam lempeng agar. Penisilin akan berdifusi ke segala arah dalam medium dan membentuk zona hambatan yang tidak bisa ditumbuhi bakteri. Di bagian pinggir lempeng terjadi pertumbuhan normal.

Biarkan kultur dalam lempeng ini beberapa hari, setelah itu akan terbentuk koloni baru diantara zona penghambatan dengan zona pertumbuhan normal.

(plate seperti mata sapi). Koloni yang baru muncul ini adalah bakteri yang telah kehilangan dinding selnya (bentuk L).

Bakteri bentuk-L hidup pada medium dengan konsentrasi penisilin tinggi, pada konsentrasi rendah dia akan kembali ke bentuk normal. Bentuk-L bisa terjadi pada jaringan hewan dan manusia yang terinfeksi bakteri, sebagai upaya bakteri untuk mempertahankan diri dari lisis. Setelah beberapa lama bentuk-L akan kembali ke keadaan semula bila terapi antibiotik dihentikan.

Perbedaan bentuk-L dengan protoplas dan Sferoplas adalah kemampuannya untuk memperbanyak diri. Sferoplas mampu melakukan pembelahan biner sebagaimana bakteri biasa. Bentuk-L ukurannya bisa membesar menjadi 500 μ . Bentuk-L yang besar bisa membentuk unit-unit yang lebih kecil dengan pembelahan atau tunas. Unit-unit kecil ini (elementary corpuscle) bisa tumbuh dan memperbanyak diri berulang kali. Bila perlakuan/terapi antibiotik dihentikan, bentuk-L akan kembali ke sel bakteri normal, dan menyebabkan penyakit kembali. Dengan cara ini bakteri bertahan dari antibiotika sehingga menyebabkan infeksi yang kronis.

4) Mikoplasma

Mikoplasma secara alami merupakan bakteri tidak berdinding, bukan karena dindingnya rusak. Karena tidak punya dinding mikoplasma bentuknya berubah-ubah. Selain itu mikoplasma sangat kecil sehingga lolos dari saringan (filter) bakteri. Tidak sensitif terhadap antibiotik perusak dinding sel seperti penisilin.

Mikoplasma banyak dijumpai sebagai penyebab berbagai penyakit manusia maupun hewan. Mikoplasma pertamakali diisolasi pada sapi, domba yang menderita pleuromonia sehingga dikenal dengan istilah PPLO (pleuro pneumonia like organisms). Mikoplasma mirip dengan bentuk-L (L-form), cuma tidak bisa kembali ke sel bakteri normal yang punya dinding sel.

C. Struktur di dalam dinding sel

Struktur bakteri yang berada di dalam dinding sel meliputi: membran plasma, filamen aksial, mesosoma, Nukleoid, plasmid, nukleoplasma, ribosoma, dan inklusio.

- 1) Membran plasma, sebagaimana sel eukariot, membran sel bakteri terdiri dari dwi lapis lipid dengan model mozaik cair (fluid mozaik).

Membran penting artinya dalam mengatur transpor zat dari dan ke luar sel, baik dengan transpor aktif maupun pasif. Membran juga berperan dalam pembuangan zat-zat sisa, pembentukan energi dan lain-lain. Pada bakteri fotosintetik molekul penangkap cahayanya berada pada membran plasma.

- 2) Filamen aksial.

Spirochaeta, bergerak dan berpindah tempat menggunakan struktur khusus berupa filamen aksial. Pengamatan dengan mikroskop elektron menunjukkan filamen ini terdiri dari dua buah fibril yang mirip dengan struktur flagel.

3) Mesosoma

Mesosoma merupakan invaginasi membran plasma. Pada bakteri Gram-positif mesosoma terlihat bagai suatu kantong yang memiliki tubula, vesikel atau lamela. Tetapi pada bakteri Gram-negatif mesosoma berupa lamela (lapisan yang melipat-lipat).

Mesosoma diyakini berperan dalam sintesis dinding sel, pembelahan materi nukleus, respirasi dan dalam pembentukan spora (endospora).

4) Nukleoid

Sel prokariotik (bakteri) tidak memiliki membran nukleus, nukleolus serta aparatus mitosis, materi genetik (genom) berupa kromosom tunggal. Kromosom berada pada daerah nukleoplasma (nukleo-plasma region) dan tidak dibatasi dengan membran nukleus.

5) Plasmid

Bakteri memiliki bahan genetik tambahan berupa DNA ekstrakromosom yang disebut Plasmid. Plasmid mampu bereplikasi sendiri. Plasmid bukan merubah bahan esensial untuk kehidupan organisme.

6) Ribosoma

Ribosom berada bebas dalam sitoplasma bakteri. 40 % dari berat kering bakteri berupa ribosoma. Secara kimia ribosoma berupa 40 % protein dan

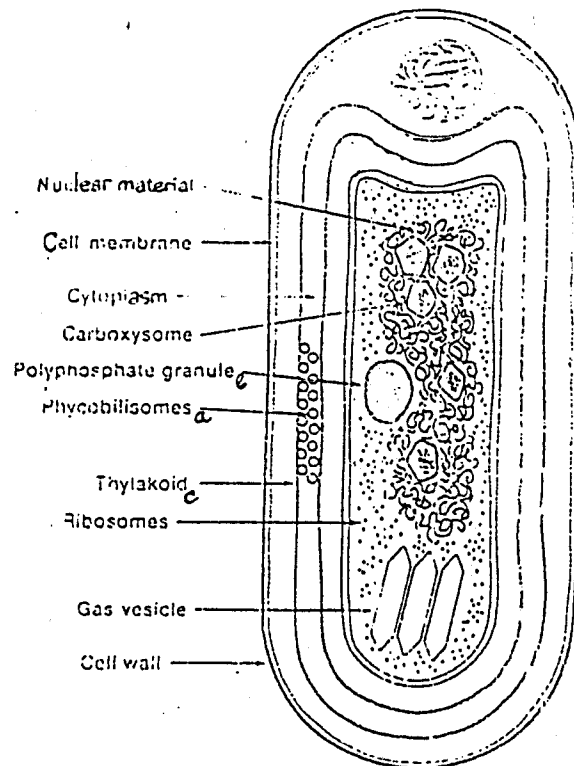
60 % RNA. Ukuran ribosom bakteri lebih kecil dari pada ribosom sel enkarit.

Ribosom penting untuk sintesis protein.

7) Aparatus fotosintesis

Beberapa bakteri seperti bakteri ungu dan bakteri hijau memiliki alat khusus untuk penangkap cahaya. Alat ini berbeda dengan kloroplas pada tumbuhan.

Pada bakteri ungu, pigmen fotosintetik terdapat dalam suatu kompleks membran di dalam sitoplasma (gambar 9b). Pada bakteri hijau pigmen terdapat dalam organel khusus yang disebut khlorobium. Sedangkan pada bakteri hijau - biru pigmen fotosintetik (phycobili protein) berada dalam tempat khusus disebut phycobilisoma (fikobilisoma) yang terdapat pada permukaan luar membran plasma atau tilakoid (gambar 9 a-c).



Gambar 9: Struktur bakteri fotosintetik

8) Inklusi

Selama siklus pertumbuhan, bakteri dapat mengakumulasi bahan (materi) baik yang larut maupun tidak larut. Akumulasi ini membentuk badan tidak hidup yang disebut inklusi. Inklusi bisa berupa lipid, polisakarida dan materi anorganik. Inklusi ini berada di sitoplasma sehingga disebut juga inklusi sitoplasma.

Inklusi terbagi atas 2 bagian berdasarkan ada tidaknya membran.

a) Inklusi yang tidak dibatasi membran

(1) granula metakromatik

yaitu inklusi yang mengandung asam nukleat, lipid dan protein, yang berperan sebagai cadangan makanan.

(2) granula polisakarida

Inklusi ini terdiri dari glikogen dan pati

b) Inklusi yang dibatasi membran

Membran sebagai pembungkus badan inklusi ini bukan dwi lapis lipid seperti membran plasma melainkan lapisan protein. Inklusi seperti ini meliputi: karboksisoma, inklusi lipid dan vakuola gas.

(1) Karboksisoma, yaitu suatu organel yang mengandung enzim yang berperan dalam fiksasi CO_2 . Inklusi berisi enzim ini selalu ada pada sianobakteri, yang bentuknya berupa polihedral.

(2) Inklusi Lipid

Inklusi berupa lipid terutama terdapat pada *Azotobacter*, *Bacillus*, *Spirillum* dan lain-lain. Inklusi ini tidak menyerap warna bila diperlakukan dengan pewarnaan sederhana.

(3) Vakuola gas

Bakteri fotosintetik, bakteri sulfur, memiliki struktur yang berisi gas yang disebut vakuola gas. Vakuola gas berperan dalam pengaturan kemampuan mengapung sel, perlindungan terhadap cahaya dan lain-lain.

Dalam siklus hidupnya beberapa bakteri bisa berubah dari satu bentuk ke bentuk lain. Perubahan ini merupakan suatu diferensiasi primitif.

Pada bakteri ada tiga bentuk dorman.

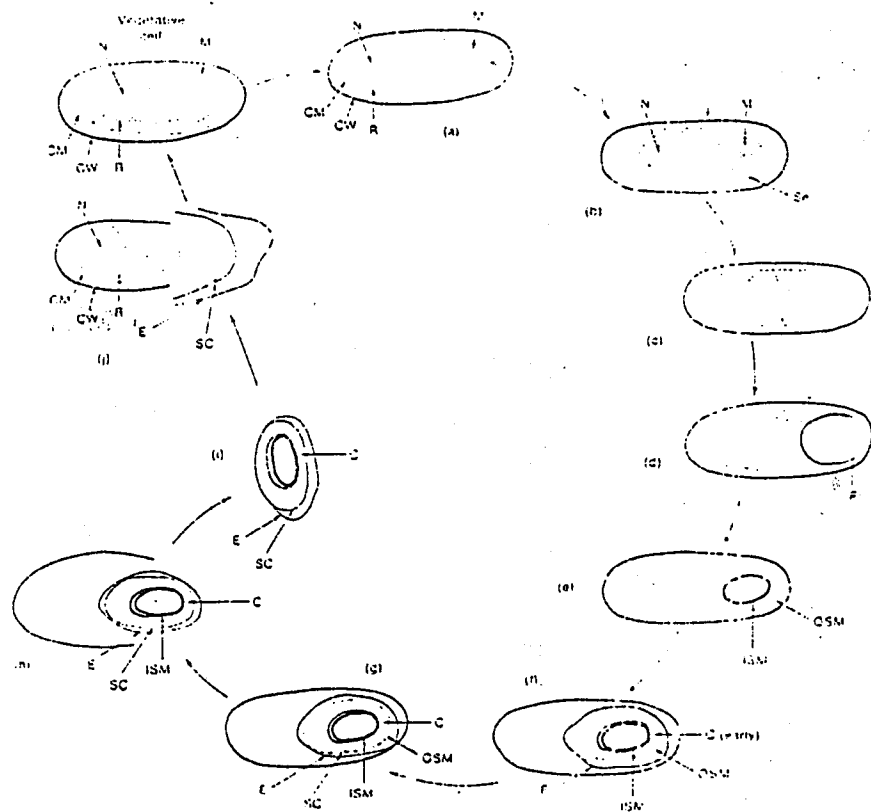
1. Bentuk yang tahan panas berupa: endospora, kista
2. Bentuk yang rentan terhadap panas: konidia

Bakteri lain (alga hijau-biru) membentuk sel mirip kista yang disebut *heterokista*, dan sel mirip spora disebut *Akinet*. Berikut akan dibahas satu persatu bentuk khusus pada bakteri. Dormansi dari bakteri sudah banyak diteliti, misalnya spora dari *Bacillus anthracis* berumur 60 tahun ditemukan dalam keadaan baik dan bisa dikecambahkan. Daging yang sudah membatu selama 118 tahun ditemukan mengandung spora, basilus termofilik. Bahkan pada saluran pencernaan mummi juga ditemukan *Clostridium sp.*

Proses pembentukan spora disebut dengan sporulasi. Sporulasi terjadi melalui beberapa tahapan, tahap awal terbentuknya sekat atau dinding

pemisah dekat salah satu ujung sel sehingga sitoplasma terbagi dua ruang yang berbeda ukuran. Sitoplasma pada ruang yang besar, dan DNA pada ruang yang kecil. Sekat ruang besar perlahan akan menyelubungi ruangan kecil sehingga ada dua membran berdekatan. Antara membran luar dan membran dalam terbentuk korteks. Sporulasi selanjutnya adalah membentuk selubung spora yang berada di luar membran luar. Pada beberapa spesies di luar selubung spora masih ada pelindung tipis yang disebut *eksosporium*. Setelah spora sempurna sel induk lisis spora lepas.

Bila keadaan lingkungan menguntungkan maka spora akan kembali membentuk sel vegetatif. Sporulasi lengkap dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10: Tahap sporulasi bakteri (Wistreich, 1980: 135)

Salah satu ciri unik endospora adalah susunan kimiawinya, Spora mengandung sangat sedikit air, serta memiliki kalsium dipikolinat $\pm 10\%$ dari berat keringnya, selain itu spora memiliki DNA, sedikit enzim dan RNA. Kemampuan spora bertahan pada panas tinggi diyakini berhubungan dengan jumlah kalsium dipikolinatnya. Bakteri yang dipaksa bersporulasi dalam medium yang kekurangan Ca^{+2} , sehingga produksi kalsium dipikolinatnya rendah, ternyata ketahanan sporanya terhadap panas juga menurun.

Letak serta ukuran spora dalam sel tidak sama bagi semua jenis. Ada spora yang terletak di tengah, di ujung (terminal) serta di sub terminal. Letak serta ukuran spora dipakai untuk identifikasi bakteri.

1. Endospora

Endospora merupakan struktur dorman yang terbentuk di dalam sel bakteri. Endospora berbentuk bulat atau oval, bersifat tembus cahaya, sangat sukar diwarnai serta sangat resisten terhadap faktor-faktor luar yang tidak menguntungkan, seperti panas, pengeringan, bahan kimia disinfektan dan radiasi. Endospora dihasilkan oleh spesies *Bacillus*, *Clostridium* dan *Sporosarcina*.

Spora pada bakteri bukan merupakan alat reproduksi, melainkan suatu bentuk pertahanan diri terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan. Bakteri pada tahap spora relatif lebih sulit dibunuh dibanding dengan yang tidak membentuk spora.

Tahap endospora (dormansi) akan berakhir bila kondisi lingkungan membaik. Pemecahan masa dorman ini melalui 3 tahap yaitu, tahap aktivasi, tahap perkecambahan, dan tahap pertumbuhan.

a) Tahap aktivasi

Fase dorman akan berakhir dan diikuti dengan fase vegetatif bakteri. Perubahan dari endospora ke fase vegetatif diawali dengan aktivasi. Endospora akan diaktivasi oleh beberapa agen pemicu baik itu secara fisik maupun kimia. Agen pemicu fisik misalnya suhu. Hanya beberapa menit perlakuan pada suhu 60°C - 70°C atau refrigerasi pada 42°C telah mampu membangunkan endospora sehingga teraktivasi.

Agen kimia diantaranya adalah senyawa-senyawa yang bersifat menurunkan tegangan permukaan, materi anorganik seperti Cl, Co, Mn, P, Zn, dan bahan-bahan metabolik lainnya seperti adenosin, alamin, kalsium, CO_2 , glukosa, asam laktat, tirosin dan lain-lain.

Agen pemicu ini pada umumnya menyebabkan:

- 1) Meningkatnya permeabilitas membran dengan cara mengaktifkan enzim-enzim litik.
- 2) Mengikis pelindung spora
- 3) Mengaktifkan metabolisme karbohidrat

b) Tahap perkecambahan

Perkecambahan endospora akan terjadi bila air dan nutrien bisa memasuki spora. Bila hal ini terjadi maka:

- 1) Akan terjadi peningkatan pemakaian O_2 dan terjadi oksidasi glukosa
- 2) Spora akan mengembang
- 3) Akan terjadi pengeluaran 30 % dari berat kering spora yang diekskresikan berupa zat padat mengandung kalsium dipikolat, protein, asam amino, glikopeptida dan lain-lain.

c) Tahap pertumbuhan

Bila spora sudah teraktivasi dan berkecambah maka pertumbuhan akan terjadi. Untuk terjadi pertumbuhan dibutuhkan medium pertumbuhan lengkap. Pada tahap awal berkecambah, akan terbentuk gelembung spora dalam mantel spora lalu diikuti terbentuknya dinding sel dan membran plasma.

Sel vegetatif baru akan muncul dari mantel spora dan akan memanjang. Bila diberi antibiotik yang mampu menghambat sintesis protein, maka perkecambahan tidak akan diteruskan ke pertumbuhan.

2. Kista

Kista dibentuk oleh *Azotobacter spp* dan beberapa *Myxobacteria*. Kista pada umumnya berbentuk bulat (bola) dengan dinding yang tebal. Kista mengandung materi genetik, lipid. Dinding kista ada dua lapis yaitu, dinding dalam disebut *intin* dan dinding luar disebut *eksin*. Kista tidak tahan panas, tetapi tahan terhadap kekeringan.

3. Konidia

Konidia merupakan spora aseksual yang terbentuk di bagian sel bagian ujung dengan proses fragmentasi. Konidia merupakan bentuk dorman yang ditemukan pada bakteri mirip jamur Actinomycetes, seperti *Streptomyces viridochromogens*.

Beda konidia dengan spora adalah: konidia tidak punya korteks, dan tidakpunya asam dipikolinat.

4. Heterokista dan Akinet

- a. Bakteri hijau-biru kadang-kadang membentuk sel khusus berbentuk bulat disebut heterokista. Sel ini muncul dari sel vegetatif. Kebanyakan dipakai untuk fiksasi nitrogen.
- b. Akinet diperlukan bakteri hijau-biru sebagai pertahanan terhadap kekeringan dan pembekuan. Akinet ukurannya selalu lebih besar dari sel vegetatif.

UNIV. NEGERI PADANG

Rangkuman

Morfologi bakteri sangat penting, karena hal ini dijadikan dasar dalam identifikasi. Ukuran bakteri bervariasi dan yang paling kecil adalah mikoplasma. Bentuk bakteri secara umum terbagi tiga yaitu, kokus, basil dan spiral.

1914

Struktur bakteri yang berada dipermukaan berupa apendiks yaitu, flagel, pili, dan duri (spina); menempel dipermukaan: kapsul dan selongsong; dinding sel. Karena satu sebab, dinding sel bakteri bisa rusak.

Dilihat dari besarnya kerusakan dinding sel, serta kemampuannya memproduksi, bakteri dibagi atas: protoplas, sferoplas, bentuk L dan mikoplasma.

Sel bakteri bisa berdiferensiasi karena faktor lingkungan yang tidak sesuai membentuk: endospora, kista, konidia, heterokista dan akinet. Diferensiasi bisa permanen bisa sementara. Yang permanen misalnya pada heterokista dan akinet.

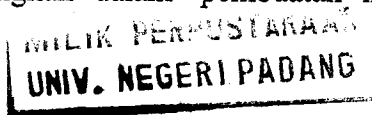
Evaluasi

1. Bedakan sel prokariotik dengan sel eukariotik serta beri contoh masing-masingnya.
2. Buatlah persamaan dan perbedaan bakteri fotosintetik dengan sel tumbuhan.
3. Jelaskan dengan tabel, fungsi dan komposisi kimia organel berikut:
 - a. Dinding sel, b. Kapsul, c. Mesosoma, d. Pilus, e. Silia, f. Flagel pada bakteri,
 - g. Phycobilisoma, h. Gas vakuola
4. Bandingkan dinding sel bakteri Gram-negatif dengan Gram-positif
5. Jelaskan:
 - a. Beda spora pada bakteri dengan spora pada jamur
 - b. Apa yang dimaksud dengan sporulasi
 - c. Bagaimana cara menghancurkan spora bakteri
6. Jelaskan beda antara protoplasma dengan sferoplas
7. Apa pentingnya organel berikut dalam menentukan virulensi bakteri, penyebaran penyakit serta diagnosis penyakit:
 - a. Flagel, b. Kapsul, c. Pili, d. Dinding sel, e. Spora, f. ribosom
8. Bagaimana memisahkan dinding sel dari kultur bakteri
9. Apa yang dimaksud dengan bentuk L, dan apa bedanya dengan mikoplasma.

BAB II
NUTRISI

A. Tujuan Khusus Perkuliahan

1. Mahasiswa dapat menjelaskan persyaratan nutrisi yang harus dipenuhi untuk kehidupan mikroorganisme.
2. Mahasiswa dapat membedakan antara media sintetik dengan media non-sintetik.
3. Mahasiswa dapat membedakan media biakan berdasarkan bentuk.
4. Mahasiswa dapat memahami langkah-langkah dalam pembuatan media bakteriologis.



B. Pendahuluan

Pertumbuhan mikroorganisme tergantung dari tersedianya air. Bahan-bahan yang terlarut dalam air, yang digunakan oleh mikroorganisme untuk membentuk bahan sel dan memperoleh energi, disebut nutrien. Tuntutan berbagai mikroorganisme yang menyangkut susunan larutan makanan dan persyaratan lingkungan tertentu, sangat berbeda-beda. Beberapa bakteri mempunyai persyaratan nutrien yang sederhana, sedangkan yang lain mempunyai persyaratan yang rumit. Oleh sebab itu diperkenalkan banyak resep untuk media biak bagi mikroorganisme. Didalam media biak harus tersedia semua unsur yang ikut serta pada pembentukan bahan sel dalam bentuk berbagai senyawa yang dapat diolah.

1911

C. Materi

1. Kebutuhan Nutrien Bagi Mikroorganisme

Menilik susunan kimia sel, unsur-unsur yang terkandung dalam semua organisme dapat dibedakan atas dua kelompok, yaitu 10 unsur makro: karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, belerang, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, dan besi yang terkandung dalam semua organisme, dan unsur-unsur mikro seperti: mangan, molibdenum, seng, tembaga, kobalt, nikel, vanadium, bor, khlor, natrium, selenium, silika, wolfram, dan lain-lain yang tidak diperlukan oleh semua mikroorganisme. Atau hanya diperlukan mikroorganisme tertentu Semua bentuk kehidupan, dari mikroorganisme sampai kepada manusia, mempunyai persamaan dalam hal persyaratan nutrisi, diantaranya:

a. Sumber-sumber karbon dan energi

Organisme yang mengambil energinya dengan fotosintesis atau dengan cara mengoksidasi senyawa-senyawa anorganik dapat memanfaatkan CO sebagai sumber karbon utama. Ditinjau dari segi nutrisi, semua organisme tersebut dimasukkan ke dalam kelompok autotrof. Bila mereka memperoleh energinya dari cahaya maka disebut kemoutotrof. Sejumlah bakteri lainnya tidak dapat menggunakan karbon dioksida sebagai sumber karbon satu-satunya dan bergantung kepada autotrof untuk memproduksi karbohidrat dan senyawa-senyawa organik lain yang digunakannya sebagai makanan. Bakteri yang mensyaratkan senyawa organik sebagai sumber karbonnya disebut heterotrof. Zat-zat alamiah yang terbanyak terdapat di bumi ini ialah polisakarida selulosa dan pati. Komponen bangun monomer dari senyawa-senyawa polimer

MILIK PERUSAHAAN
UNIV. NEGERI PADANG

1911

ini ialah glukosa yang mampu dimanfaatkan oleh sebagian besar mikroorganisme. Tetapi semua zat organik lain yang terbentuk secara alamiah juga diolah dan diuraikan oleh mikroorganisme.

b. Zat-zat pelengkap

Banyak organisme juga memerlukan zat pelengkap disamping mineral-mineral, sumber karbon dan energi untuk makanannya, yang disebut juga faktor pertumbuhan atau suplemen. Faktor pertumbuhan adalah suatu senyawa organik yang harus ada dalam sel agar sel dapat tumbuh, tetapi sel tersebut tidak dapat mensintesisnya. Termasuk dalam zat-zat pelengkap ini ialah: asam-asam amino, senyawa purin dan pirimidin, dan vitamin-vitamin. Asam-asam amino, senyawa purin dan pirimidin merupakan bagian dari senyawa protein dan asam-asam nukleat, dan oleh sel-sel diperlukan dalam jumlah yang sesuai. Sebaliknya vitamin-vitamin merupakan bagian dari koenzim-koenzim dan gugus-gugus prostetik, jadi mempunyai fungsi enzimatik katalitik dan digunakan dalam jumlah amat sedikit.

c. Sumber Nitrogen

Nitrogen adalah komponen utama dari protein dan asam nukleat, umumnya 10% dari bobot kering sel bakteri. Nitrogen dapat dipasok dalam beberapa bentuk yang berbeda, seperti: NO_3^- , NO_2^- , N_2 , NH_4^+ , dan R-NH_2 . Kemampuan mikroorganisme dalam mengasimilasi nitrogen berbeda-beda. Hasil akhir dari semua jalur untuk asimilasi nitrogen adalah bentuk tereduksi yang terakhir dari unsur nitrogen, yakni ion amonium (NH_4^+).

Banyak mikroorganisme memiliki kemampuan mengasimilasi nitrat dan

nitrit lewat reduksi dengan mengubah ion ini menjadi amonia (NH_3). Jalur asimilasi ini berbeda dengan jalur yang digunakan untuk disimilasi nitrat dan nitrit. Dalam jalur disimilasikan, organisme menggunakan ion-ion itu sebagai penerima elektron akhir dalam pernafasan. Proses ini dikenal sebagai denitrifikasi, dan hasilnya adalah gas nitrogen (N_2) yang dilepaskan ke atmosfer.

Kemampuan mengasimilasi N_2 dengan reduksi lewat NH_3 yang disebut penambatan (fiksasi) nitrogen, merupakan sifat unik prokariota; relatif hanya sedikit bakteri yang memiliki kemampuan metabolisme ini. Proses ini membutuhkan sejumlah besar energi metabolisme dan mudah dibuat menjadi tidak aktif oleh oksigen. Kemampuan memfiksasi nitrogen ditemukan pada berbagai macam bakteri yang telah mengembangkan strategi biokimia yang berbeda-beda untuk melindungi enzim fiksasinya dari oksigen.

Sebagian besar mikroorganisme dapat menggunakan NH_4 sebagai sumber nitrogen satu-satunya, dan banyak organisme memiliki kemampuan menghasilkan NH_4 dari amina (R-NH_2) Amonia masuk ke dalam bahan organik lewat jalur biokimia yang melibatkan glutamat dan glutamin.

d. Sumber Belerang

Seperti nitrogen, belerang merupakan komponen dari banyak bahan organik dalam sel. Nitrogen merupakan bagian struktur beberapa koenzim dan ditemukan pada rantai sistein dan metionin pada protein. Sebagian besar mikroorganisme dapat menggunakan sulfat sebagai sumber belerang, dan mereduksi sulfat itu sampai tingkat hidrogen sulfida. Beberapa mikroorganisme dapat mengasimilasi H_2S langsung dari perbenihan tetapi senyawa ini bersifat

UNIV. NEGERI PADANG

toksik bagi banyak organisme lainnya.

e. Sumber Oksigen

Oksigen yang tersedia untuk keperluan sel adalah dalam bentuk air. Selain itu oksigen juga terdapat dalam CO_2 dalam banyak senyawa organik. Disamping itu, masih banyak organisme yang tergantung dari oksigen molekul (O_2 atau dioksigen). Fungsi utama oksigen adalah sebagai akseptor elektron terminal pada respirasi aerob; pada peristiwa ini direduksi menjadi air.

Oksigen yang berasal dari molekul oksigen hanya akan diinkorporasi ke dalam substansi sel kalau sebagai sumber karbon digunakan metana atau hidrokarbon aromatik yang berantai panjang. Melihat hubungannya dengan oksigen dapat dibedakan sekurang-kurangnya tiga kelompok organisme: organisme aerob obligat yang mampu menghasilkan energi hanya melalui respirasi dan dengan demikian tergantung pada oksigen bebas. Organisme anaerob obligat hanya dapat hidup dalam lingkungan bebas oksigen (oksigen merupakan toksik bagi organisme ini). Mikroorganisme anaerob fakultatif tumbuh dengan adanya oksigen udara, jadi bersifat aerotoleran; tetapi organisme ini tidak dapat memanfaatkan oksigen, dan memperoleh energi semata-mata dari peragian.

f. Sumber Fosfor

Fosfor di antaranya berada dalam bentuk fosfat (PO_4^{3-}). Unsur ini dibutuhkan untuk komponen ATP, asam nukleat, dan berbagai koenzim seperti NAD, NADP, dan flavin. Selain itu, banyak metabolit dan beberapa protein mengandung fosfor. Fosfat selalu diasimilasi sebagai fosfat an-

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

organik bebas (Pi).

g. Sumber Mineral

Banyak mineral dibutuhkan untuk fungsi enzim. Ion magnesium (Mg^{+2}) dan ion besi (Fe^{+2}) ditemukan pada turunan porfirin: magnesium dalam molekul klorofil, dan besi sebagai bagian dari koenzim sitokrom dan peroksidase. Mg^{+2} dan K^{+} merupakan mineral esensial untuk fungsi dan integritas ribosom. Ca^{+2} dibutuhkan sebagai unsur dalam dinding sel gram positif, tetapi mineral ini kadang-kadang tidak dibutuhkan oleh bakteri gram negatif. Banyak organisme laut membutuhkan Na^{+} untuk pertumbuhan. Bila membuat formula perbenihan untuk membiakkan mikroorganisme, perlu disediakan sumber kalium, magnesium, kalsium, dan besi biasanya dalam bentuk ion (K^{+} , Mg^{+2} , Ca^{+2} dan Fe^{+2}). Berbagai mineral lain (misalnya Mn^{+2} , Mo^{+2} , Co^{+2} , Cu^{+2} dan Zn^{+2}) juga dibutuhkan; mineral-mineral ini sering terdapat dalam air leding atau sebagai pencemar baha-bahan perbenihan yang lain.

2. Medium biakan

Untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba diperlukan suatu substrat yang disebut media perbenihan. Sejumlah besar mikroorganisme tidak banyak tuntutanannya terhadap media perbenihan ini. *Escherihia coli* dapat tumbuh subur dalam larutan biak dengan susunan yang sederhana. Selain susunan media perbenihan yang sederhana, banyak mikroorganisme masih memerlukan unsur lain seperti unsur pelengkap, vitamin-vitamin dan senyawa tambahan lain. Sesuatu larutan biak yang dapat dibuat dari senyawa-senyawa kimia tertentu, disebut media biak sintetik. Harus diusahakan agar untuk

setiap mikroorganisme dapat ditetapkan kebutuhan bahan makanan minimum dan mengembangkan medium minimum yang tidak mengandung lebih banyak komponen daripada yang diperlukan untuk pertumbuhan. Jenis mikroorganisme yang mempunyai tuntutan tinggi memerlukan sejumlah besar zat pelengkap, misalnya: *Leuconostoc mesenteroides* telah dikembangkan suatu medium sintetik yang mengandung lebih dari 40 komponen.

Untuk sebagian besar mikroorganisme yang bertuntutan tinggi, belum begitu diketahui bahan-bahan makanan yang diperlukannya. Biasanya dilakukan pembiakan dalam larutan perbenihan yang mengandung ekstrak ragi, otolisat ragi, pepton atau ekstrak daging. Untuk beberapa kelompok organisme sering juga digunakan rempah-rempah, sari wortel, santan dan untuk cendawan koprofil juga sari perasan tahi kuda. Mengingat biaya, larutan-larutan biak tidak dibentuk dari senyawa-senyawa murni tetapi menggunakan zat-zat kompleks seperti air dadih, air rendaman jagung atau ekstrak kedele. Media biak seperti ini disebut media kompleks. Secara kimiawi, media biakan dapat dibedakan atas:

a. Media alami (non-sintetik)

Media alami adalah media yang bahan penyusunnya berasal atau sudah terdapat secara alami. Bahan-bahan ini biasanya tidak diketahui kandungan kimiawinya secara rinci. Beberapa contoh dari media ini adalah: ekstrak daging, pepton, ekstrak ragi, dan kaldu daging. Kadangkala dalam media ini ditambahkan darah, serum, vitamin, asam amino atau nukleosida. Bahan-bahan ini diperlukan mikroorganisme tertentu untuk pertumbuhannya. Media non-sintetik sering

digunakan dalam laboratorium mikrobiologi karena mudah disiapkan dan harganya lebih murah dibandingkan media sintetik. Selain dari itu media ini dapat digunakan untuk membiakkan berbagai macam mikroba.

b. Media sintetik

Media sintetik adalah media yang telah diketahui kandungan kimiawinya secara rinci, demikian juga dengan isi bahan yang ditambahkan. Media ini sering digunakan untuk mempelajari sifat faali dan genetika mikroba. Senyawa inorganik dan organik yang ditambahkan dalam media sintetik harus murni, sehingga harganya seringkali mahal. Berdasarkan bentuk, media biakan dapat dibedakan atas:

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

1) Media padat

Untuk membuat media padat pada larutan biak cair ditambahkan bahan pematat yang memberi konsistensi seperti selai. Hanya untuk keperluan tertentu digunakan gelatin, karena gelatin ini mudah mencair pada suhu $26^{\circ}\text{C} - 30^{\circ}\text{C}$ dan banyak mikroorganisme mampu mencairkannya. Agar merupakan bahan pematat yang hampir ideal yang dapat ditambahkan pada larutan air dengan kadar 15 - 20 g/l. Agar baru mencair pada suhu 100°C , masih tetap cair kalau didinginkan sampai 45°C . Silikagel dapat digunakan sebagai pematat, jika kita tidak membutuhkan komponen-komponen organik di dalam media padat. Mikroorganisme yang membutuhkan kadar air yang tinggi perlu ditambahkan agar dalam jumlah yang relatif lebih sedikit. Sebaliknya mikroorganisme yang membutuhkan kadar air rendah, maka penambahan agar harus lebih banyak. Media padat ini biasanya digunakan untuk bakteri, ragi, jamur, dan kadangkala

juga mikroalga.

2). Media semi padat atau semi cair

Media semi padat atau semi cair adalah media dengan jumlah bahan pematat yang ditambahkan hanya 50% dari yang seharusnya. Media ini biasanya diperlukan untuk pertumbuhan mikroba yang membutuhkan kandungan air banyak dan hidup anaerob atau fakultatif.

3). Media cair

Apabila ke dalam media biakan tidak ditambahkan bahan pematat maka media ini disebut media cair. Kaldu merupakan media cair yang biasa digunakan.

3. Penyiapan media

Media alamiah (misalnya: susu skim), tidak menimbulkan masalah dalam penyiapannya sebagai media; hanya semata-mata dituang ke dalam wadah-wadah yang sesuai seperti tabung reaksi atau labu dan distrerilkan sebelum digunakan. Media dalam bentuk kaldu nutrien atau yang mengandung agar disiapkan dengan cara melarutkan masing-masing bahan yang dibutuhkan atau lebih mudah lagi dengan cara menambahkan air pada suatu produk komersial berbentuk medium bubuk yang sudah mengandung semua nutrien yang dibutuhkan. Secara komersial semua media telah tersedia dalam bentuk bubuk, dan juga dalam bentuk siap pakai di dalam cawa-cawan petri, tabung atau botol.

Penyiapan media bakteriologis selain media alamiah mengikuti langkah-langkah sebagai berikut:

a. Setiap komponen, atau medium terhidrasi yang lengkap, dilarutkan dalam

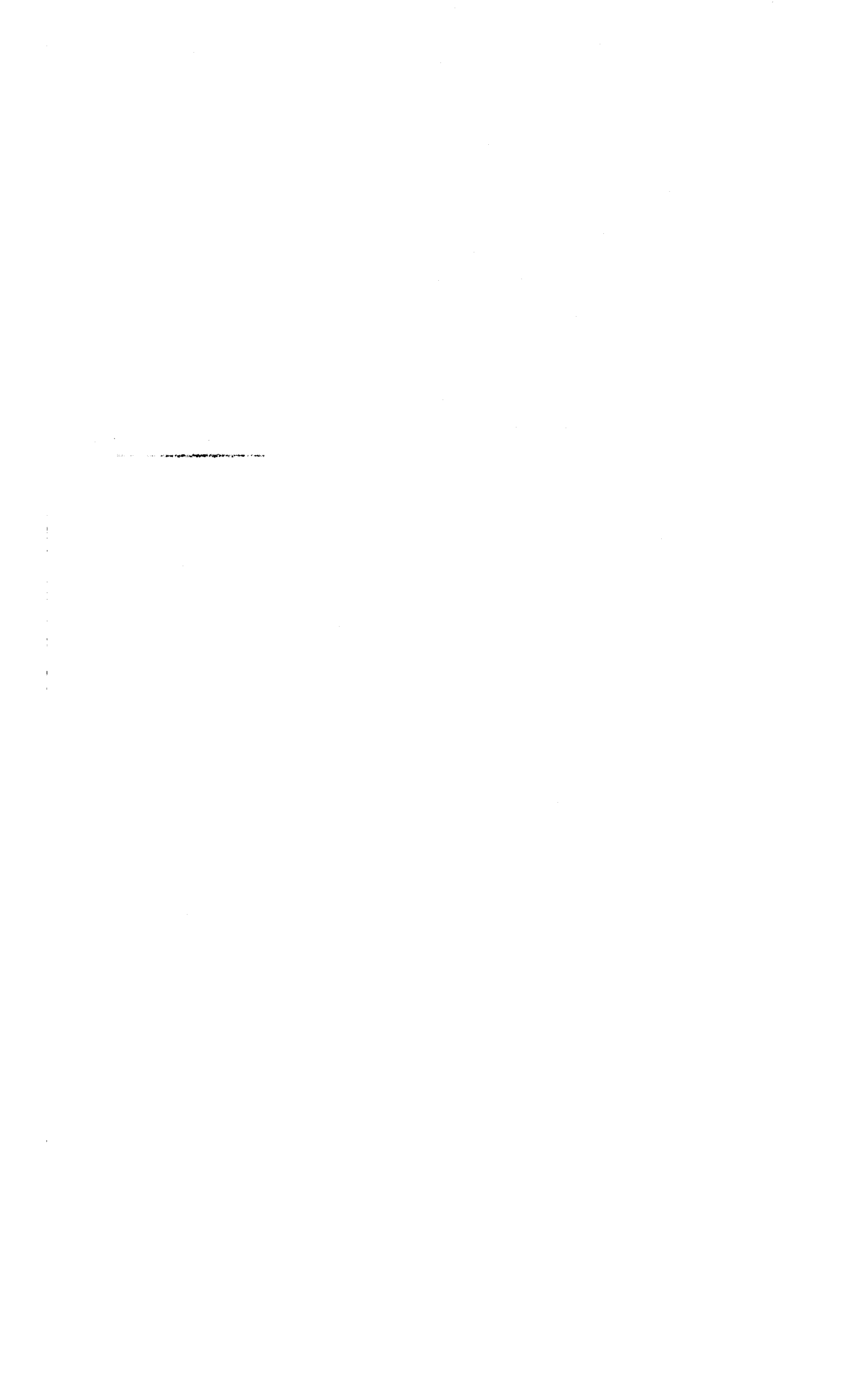
air suling dengan volume yang sesuai.

- b. pH (derajat keasaman atau kebasaaan) medium fluida ditentukan dan disesuaikan (dengan penambahan larutan basa atau asam) dengan nilai yang optimum bagi pertumbuhan bakteri yang akan dikultivasi. pH ditentukan dengan menggunakan indikator pH atau pH meter
- c. Medium tersebut dituang ke dalam wadah yang sesuai seperti tabung, labu, atau botol dan ditutup dengan sumbat kapas atau tutup plastik atau logam sebelum disterilisasi.
- d. Kemudian medium disterilkan dengan menggunakan autoklaf

UNIV. NEGERI PADANG

D. Rangkuman

1. Pertumbuhan mikroorganisme tergantung kepada bahan-bahan yang terlarut di dalam air. Bahan-bahan yang digunakan untuk membentuk bahan sel dan mendapatkan energi disebut nutrien.
2. Dari susunan kimia sel mikroorganisme maupun makhluk hidup lainnya terdiri dari unsur makro (yaitu: karbon, oksigen, hidrogen, nitrogen, belerang, fosfor, kalium, kalsium, magnesium, dan besi), dan unsur mikro (yaitu: mangan, molibdenum, seng, tembaga, kobalt, nikel, vanadium, bor, khlor, natrium, selenium, silika, dan wolfram).
3. Persyaratan nutrisi yang harus dipenuhi bagi kelangsungan hidup mikroorganisme adalah sumber karbon dan energi, zat-zat pelengkap, sumber nitrogen, sumber belerang, sumber oksigen, sumber fosfor, dan sumber mineral.
4. Secara kimiawi, media biak dapat dibedakan atas media non-sintetik (media



yang bahan penyusunnya berasal atau sudah terdapat secara alami), dan media sintetik (media yang kandungan kimianya secara rinci diketahui).

5. Berdasarkan bentuk media, media biak dibedakan atas media padat (media yang berasal dari biakan cair yang ditambahkan bahan pematat), media semi padat (media dengan jumlah bahan pematat yang ditambahkan hanya 50%), dan media cair (media biak tanpa bahan pematat).

E. Evaluasi

1. Jelaskan persyaratan nutrisi yang diperlukan mikroorganisme untuk hidup berdasarkan substansi kimiawi!
2. Jelaskan tentang media biakan berdasarkan senyawa kimia!
3. Jelaskan tentang media biakan berdasarkan bentuk media!
4. Jelaskan cara penyiapan media, baik media sintetik maupun non-sintetik!

BAB III

PERTUMBUHAN

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

A. Tujuan Khusus Perkuliahan

1. Mahasiswa dapat menjelaskan pengertian pertumbuhan pada organisme uniseluler dan organisme multiseluler.
2. Mahasiswa dapat menjelaskan tentang waktu generasi.
3. Mahasiswa dapat menguraikan tentang tahap pertumbuhan mikroorganisme.
4. Mahasiswa dapat menjelaskan cara mengukur pertumbuhan.
5. Mahasiswa dapat membedakan kultur statik dengan kultur kontinu

B. Pendahuluan

Populasi mikroorganisme dalam biosfer biasanya selalu tetap, dimana pertumbuhan diimbangi oleh kematian. Kelangsungan hidup kelompok mikroba apapun sebagian besar ditentukan oleh keberhasilan persaingan untuk mendapatkan makanan dan oleh karena adanya sekelompok sel yang mampu hidup selama masa kekurangan makanan. Pertumbuhan merupakan salah satu ciri yang dimiliki oleh setiap makhluk hidup. Pertumbuhan dapat didefinisikan sebagai penambahan secara teratur semua komponen di dalam sel hidup. Pada organisme multiseluler, yang disebut pertumbuhan adalah peningkatan jumlah sel per organisme, dimana ukuran sel juga menjadi lebih besar. Pada organisme uniseluler (bersel tunggal) pertumbuhan adalah penambahan jumlah sel, yang berarti juga peningkatan jumlah individu yang merupakan anggota populasi atau

biakan. Pertumbuhan disebut dalam keadaan keseimbangan jika terjadi secara teratur pada kondisi konstan, sehingga jumlah penambahan komponen kimia juga konstan. Dalam hal ini, penambahan massa bakteri berbanding lurus dengan penambahan komponen seluler lainnya (misal: DNA, RNA dan protein). Umur sel ditentukan segera setelah proses pembelahan sel selesai, sedangkan umur kultur ditentukan dari waktu atau lamanya inkubasi. Ukuran sel tergantung dari kecepatan pertumbuhannya. Semakin baik zat nutrisi di dalam substrat tempat tumbuhnya, mengakibatkan pertumbuhan sel semakin cepat dan ukuran sel semakin besar sampai batas tertentu.

C. Materi

Sebagaimana yang telah diketahui, cara khas reproduksi bakteri adalah dengan pembelahan biner (satu sel membelah diri menjadi dua). Jadi jika kita mulai dari satu bakteri tunggal yang membelah diri, maka populasi bertambah secara geometrik:

1 ----> 2 ----> 2^2 ----> 2^3 ----> 2^4 ----> 2^5 2^n atau dengan perhitungan sederhana: 1 ----> 2 ----> 4 ----> 8 ----> 16 ----> 32

Waktu rata-rata yang diperlukan untuk membuat populasi atau biomassa menjadi dua kali lipat disebut waktu generasi atau waktu penggandaan. Tidak semua spesies bakteri mempunyai waktu generasi yang sama, seperti *Escherichia coli* (bakteri yang umum dijumpai di dalam saluran pencernaan manusia dan hewan mamalia) mempunyai waktu generasi yang singkat yaitu 15 - 20 menit, untuk mikroba lainnya mungkin memakan waktu berjam-jam.

Jika suatu bakteri mempunyai waktu generasi 20 menit, berarti satu sel bakteri tersebut akan memperbanyak diri menjadi dua sel dalam waktu 20 menit. Jika sel tersebut diinkubasikan di dalam suatu medium pada kondisi yang optimum untuk pertumbuhannya, maka dalam waktu 48 jam sel tersebut akan mengalami pembelahan sebanyak $48 \times 60/20$ kali atau 144 generasi. Jumlah sel setelah 48 jam secara teoritis akan mencapai 2144 sel. Jika setiap sel mempunyai berat 10-12 g, maka secara teoritis berat seluruh sel setelah 48 jam akan mencapai akan mencapai $2^{144} \times 10^{-12}$ g atau 2.2×10^{31} g, atau sama dengan 4000 kali berat bumi. Tetapi pada kenyataannya perkembangan mikroba tidak terjadi demikian, karena tidak semua sel yang terbentuk akan terus hidup.

Waktu generasi suatu bakteri dapat ditentukan dengan pemeriksaan mikroskopik langsung. Tetapi metode yang lebih praktis dan umum ialah menginokulasi suatu medium dengan bakteri dalam jumlah yang diketahui, membiarkan mereka tumbuh pada kondisi optimum, dan menentukan populasi pada interval waktu tertentu secara berkala. Data percobaan yang dibutuhkan untuk menghitung waktu generasi adalah: jumlah bakteri awal di dalam inokulum, jumlah bakteri yang ada pada akhir waktu tertentu, dan interval waktu.

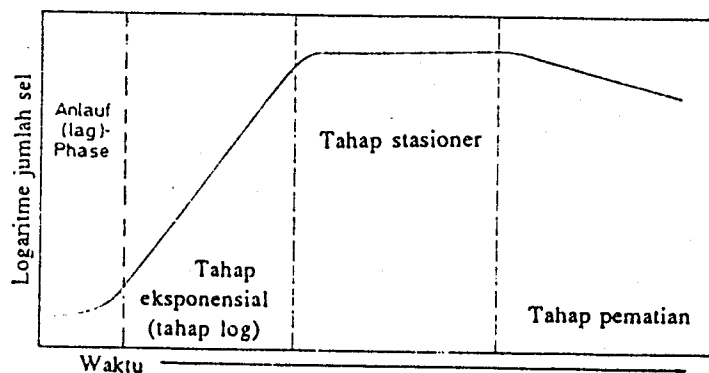
1. Kurva Pertumbuhan

Jika bakteri ditanam dalam suatu larutan biak, maka bakteri akan terus tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum dan pertumbuhan menjadi terbatas. Kalau sepanjang peristiwa ini tidak diadakan penambahan nutrisi atau penyaluran keluar produk-produk metabolisme, maka

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

pertumbuhan dalam lingkungan hidup seperti ini disebut kultur statik. Pertumbuhan dalam sistem tertutup ini mematuhi hukum-hukum yang tidak hanya berlaku untuk organisme bersel tunggal saja, tetapi juga untuk organisme bersel banyak. Apabila kita menginokulasikan sejumlah tertentu sel pada suatu medium yang segar, kemudian menentukan populasi bakteri tersebut pada waktu tertentu selama periode inkubasi 24 jam, dan memetakan logaritma jumlah sel hidup terhadap waktu, maka diperoleh suatu kurva pertumbuhan seperti pada gambar di bawah ini. Kurva ini berbentuk sigmoid dan dapat dibedakan dalam beberapa tahap pertumbuhan yang muncul secara teratur, yaitu: tahap anjang-ancang (fase lag), tahap eksponensial (logaritmik), tahap stasioner, dan tahap kemunduran (kematian).

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG



Gambar 11. Kurva pertumbuhan bakteri

a. Tahap anjang-ancang (fase lag)

Tahap anjang-ancang mencakup interval waktu antara saat penanaman dan saat tercapainya kecepatan pembelahan maksimum. Lamanya tahap anjang-ancang ini terutama tergantung dari biak awal, umur bahan yang ditanam, dan juga dari sifat larutan biak. Apabila sel-sel harus beradaptasi terlebih dahulu terhadap kondisi pertumbuhan baru (substrat dan lingkungan di sekitarnya), maka pada fase ini belum ada terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Jumlah sel pada fase ini mungkin tetap, tetapi kadang-kadang menurun. Lamanya fase ini bervariasi, dapat cepat atau lambat tergantung dari kecepatan penyesuaian dengan lingkungan di sekitarnya. Lamanya fase adaptasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya adalah:

1) Medium dan lingkungan pertumbuhan

UNIV. NEGERI PADANG

Sel yang ditempatkan dalam medium dan lingkungan pertumbuhan sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya, mungkin tidak diperlukan waktu adaptasi. Tetapi jika nutrisi yang tersedia dan kondisi lingkungan yang baru sangat berbeda dengan yang sebelumnya, diperlukan waktu penyesuaian untuk mensintesis enzim-enzim yang dibutuhkan dalam metabolisme.

2) Jumlah inokulum

Jumlah awal sel yang semakin tinggi akan mempercepat fase adaptasi. Fase adaptasi mungkin berjalan lambat karena beberapa hal, misalnya: 1) kultur dipindahkan dari medium yang kaya nutrisi ke medium yang kandungan nutrisinya terbatas: 2) mutant yang baru terbentuk menyesuaikan diri dengan

lingkungannya; 3) kultur yang dipindahkan dari fase statis ke medium baru dengan komposisi sama seperti sebelumnya.

b. Tahap Eksponensial

Tahap eksponensial atau logaritmik (tahap exp. atau tahap log) dicirikan dengan terjadinya pembelahan sel dengan cepat dan konstan. Kecepatan pembelahan diri sepanjang tahap log bersifat spesifik untuk tiap jenis bakteri dan tergantung lingkungan. Enterobacteriaceae membelah diri setiap 15 - 30 menit, *Escherichia coli* pada 37⁰ C kira-kira 20 menit. Pada jenis bakteri lain masa generasinya jauh lebih panjang, dan untuk kebanyakan bakteri tanah 60 -150 menit, pada Nitrosomonas dan Nitrobacter sampai 5 -10 jam. Tahap ini berlangsung sampai satu dari dua hal terjadi, yaitu: satu atau lebih zat makanan dalam perbenihan habis, atau terkumpul produk metabolisme yang beracun sehingga pertumbuhan terhambat. Untuk organisme aerob, zat makanan yang membatasi biasanya oksigen. Bila konsentrasi sel bakteri melebihi 1×10^7 /ml, laju pertumbuhan akan berkurang kecuali bila oksigen dimasukkan dengan paksa ke dalam perbenihan dengan cara mengaduk atau dengan memasukkan gelembung-gelembung udara. Didalam sebuah biakan statik juga terjadi perubahan-perubahan sel sepanjang pertumbuhan eksponensial, karena lingkungan juga terus berubah, konsentrasi substrat semakin berkurang, kerapatan sel bertambah, dan produk-produk metabolisme tertimbun. Karena kecepatan pembelahan diri relatif konstan, maka tahap log ini paling cocok untuk menetapkan kecepatan pembelahan diri (dan kecepatan

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

1919

pertumbuhan). Untuk mempelajari pengaruh faktor-faktor lingkungan (pH, potensial redoks, suhu, aerasi, dan sebagainya) dan kemampuan menggunakan berbagai substrat, dapat diikuti penyingkatan jumlah sel misalnya secara turbidometri (alatnya turbidostat) sepanjang pertumbuhan eksponensial.

c. Tahap Stasioner

Tahap stasioner dimulai apabila sel-sel tidak tumbuh lagi. Kecepatan pertumbuhan tergantung kepada kadar substrat, dimana penurunan kecepatan pertumbuhan sudah terjadi disaat kadar substrat berkurang sebelum substrat habis terpakai. Dengan demikian pengalihan dari tahap eksponensial ke tahap stasioner terjadi berangsur-angsur. Selain karena keterbatasan substrat, juga kepadatan populasi yang tinggi, tekanan parsial oksigen yang rendah, dan timbunan produk metabolisme yang toksik, dapat menurunkan kecepatan pertumbuhan dan mengintroduksi tahap stasioner. Pada tahap stasioner ini bahan-bahan simpanan masih dapat digunakan, sebagian ribosom dapat diuraikan dan masih ada pembentukan enzim. Masing-masing peristiwa ini tergantung dari faktor-faktor yang membatasi pertumbuhan. Hanya sel yang amat rentan saja yang cepat mati. Bakteri mampu mempertahankan hidup untuk masa yang panjang, selama energi yang dibutuhkan untuk mempertahankan sel-sel masih dapat diperoleh dengan respirasi bahan simpanan dan protein. Sehingga pada tahap ini pertumbuhan sel tidak stabil, tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati.

d. Tahap Kematian

Setelah beberapa

UNIV. NEGERI PADANG

saat dalam tahap stasioner, yang bervariasi untuk tiap jenis organisme dan keadaan biakan, angka kematian bertambah sehingga mencapai suatu tingkat yang stabil. Sering ditemukan, setelah sebagian besar sel mati, laju kematian berkurang secara drastis, sehingga sejumlah kecil sel yang selamat dapat bertahan berbulan-bulan bahkan bertahun-tahun. Hal ini dalam beberapa kasus menandakan pergantian sel, dimana beberapa sel tumbuh dengan zat makanan yang dilepaskan oleh sel-sel yang mati dan mengalami lisis.

2. Pengukuran Pertumbuhan

Pertumbuhan mikroba dapat ditentukan dengan mengamati peningkatan massa atau jumlah sel. Pemilihan teknik untuk pengukuran pertumbuhan tergantung organisme yang diukur. Beberapa prosedur analisis dapat dilakukan, diantaranya adalah mengukur berat kering, konsentrasi protein, nitrogen dan kekeruhan.

Massa sel dapat diukur dari berat kering sel mikroba dalam biakan. Teknik ini biasanya digunakan untuk menentukan pertumbuhan jamur. Miselium jamur dipindahkan dari medium dan dilakukan pencucian guna menghilangkan padatan yang ada di luar sel. Miselium yang telah terpisah tersebut dimasukkan ke dalam botol timbang untuk selanjutnya dikeringkan dalam suatu alat pemanas. Apabila telah kering isi dalam botol ditimbang. Prosedur ini biasanya diulang sampai berat konstan. Hasil akhir dari penimbangan merupakan prakiraan massa jamur yang dihasilkan yang tumbuh pada suatu kondisi tertentu. Data tersebut dapat digunakan untuk membandingkan laju pertumbuhan dari berbagai jamur penghasil antibiotik, atau menentukan

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

pengaruh relatif dari bahan-bahan anti jamur. Untuk menentukan massa sel bakteri juga dapat dilakukan dengan cara yang sama seperti hal di atas. Namun demikian guna menghindari terbawanya medium tempat tumbuh bersama bakteri, maka untuk memisahkan antara bakteri dan mediumnya dilakukan dengan cara sentrifugal dan ditentukan berat padatan yang ada. Berat kering sel bakteri ditentukan dengan membandingkan berat volume medium yang telah diperlakukan dikurangi dengan berat total suspensi bakteri.

Massa sel juga dapat ditentukan dengan cara analisis kimia protein atau nitrogen. Hal ini dilakukan karena konsentrasi protein atau nitrogen pada biakan bakteri yang sedang tumbuh berkorelasi dengan peningkatan massa sel.

Berat kering dan konsentrasi protein atau nitrogen dari mikroba mudah ditentukan. Namun adakalanya sering dibutuhkan waktu yang cepat untuk melihat pertumbuhan mikroba. Suatu ciri yang dapat dilihat pada biakan yang sedang tumbuh adalah peningkatan kegelapan (cloudness) medium. Salah satu alat untuk mengukur kekeruhan medium ini adalah spektrofotometer, dimana dapat diukur jumlah sinar yang hilang (diserab) melalui suatu sampel.

Cara yang paling mudah untuk menentukan jumlah mikroba adalah melalui penghitungan langsung. Gelas benda **Petroff Houser Counter (PHC)** dapat digunakan untuk menghitung bakteri. Pada bagian tengah gelas benda PHC terdapat satu petak besar yang dibagi menjadi petak-petak yang lebih kecil dengan luas tertentu. Cara penggunaannya adalah meletakkan sampel sebanyak 0,1 ml tepat di tengah-tengah gelas PHC dengan menggunakan mikropipet. Gelas PHC kemudian ditutup dengan penutupnya, lalu diamati di

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

bawah mikroskop. Tiap petak dihitung jumlah bakterinya kemudian dirata-rata hasilnya. Dengan demikian dapat diketahui jumlah bakteri yang terdapat dalam sampel. Kelemahan metode ini antara lain mikroba yang dihitung harus mempunyai ukuran populasi yang cukup besar karena volume sampel yang diambil kecil. Selain dari itu sukar membedakan bakteri hidup dan yang mati.

13. Pertumbuhan bakteri dalam kultur kontinu

Dalam biakan statik, kondisi biakan terus berubah dimana kerapatan bakteri bertambah dan konsentrasi substrat menurun. Pada penelitian fisiologik biakan statik lebih sering digunakan, karena sel-sel dapat ditumbuhkan untuk masa panjang dengan konsentrasi substrat yang tetap sama, kadang-kadang kondisi lingkungan juga dipertahankan sama, agar terjadi pertumbuhan eksponensial. Dengan memindahkan sel-sel berulang-ulang dan sering ke dalam larutan biak baru, dapat diciptakan kondisi yang mirip. Sasaran ini juga dapat dicapai secara lebih sederhana, dengan menambahkan terus-menerus larutan biak baru pada populasi bakteri yang sedang tumbuh dan dengan memindahkan suspensi bakteri dalam jumlah sama.

D. RANGKUMAN

1. Pertumbuhan merupakan salah satu ciri yang dimiliki oleh setiap makhluk hidup, baik organisme uniseluler maupun organisme multiseluler.
2. Waktu generasi untuk semua jenis mikroba tidak sama, dan dapat ditentukan dengan pemeriksaan mikroskopik langsung atau menginokulasikan medium dengan bakteri dalam jumlah yang diketahui.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

3. Dengan menginokulasikan sejumlah tertentu sel pada suatu medium, maka dapat digambarkan logaritma jumlah sel hidup terhadap waktu, dan diperoleh suatu kurva pertumbuhan yang berbentuk sigmoid.
4. Untuk mengukur pertumbuhan mikroba dapat dilakukan dengan mengamati peningkatan massa sel atau jumlah sel.

E. EVALUASI

1. Jelaskan pengertian pertumbuhan pada organisme uniseluler maupun multiseluler !.
2. Jelaskan pengertian waktu generasi.
3. tahap-tahap yang terdapat pada kurva pertumbuhan suatu bakteri!
4. Jelaskan prosedur pengukuran pertumbuhan mikroba?
5. Jelaskan perbedaan kultur static dengan kultur kontinu!

BAB IV

METABOLISME

A. Tujuan Khusus Perkuliahan

1. Mahasiswa dapat menjelaskan pengertian disimilasi dan asimilasi
2. Mahasiswa dapat menjelaskan proses glikolisis dalam lintasan Embden Meyerhoff
3. Mahasiswa dapat membedakan proses respirasi aerob dengan respirasi anaerob
4. Mahasiswa dapat menjelaskan proses terbentuknya ATP dalam fosforilasi oksidatif
5. Mahasiswa dapat menjelaskan kembali proses fotosintesis pada mikroorganisme
6. Mahasiswa dapat menjelaskan fungsi enzim
7. Mahasiswa dapat menjelaskan tentang klasifikasi enzim

B. Pendahuluan

Metabolisme merupakan semua proses biokimia yang terjadi pada bakteri maupun sel lainnya, yang menghasilkan energi dan menggunakannya untuk sintesis komponen-komponen sel dan kegiatankegiatan seluler. Secara kimia dapat dibagi ke dalam dua proses utama yaitu: 1) proses pembebasan energi melalui perombakan material organik, disebut sebagai reaksi disimilasi

**MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG**

(katabolisme); 2) proses penggunaan energi untuk sintesis senyawa organik yang penting, disebut reaksi asimilasi (anabolisme).

Bila sel merombak ikatan-ikatan kimiawi tertentu selama metabolisme, energi yang dilepaskan menjadi tersedia untuk melangsungkan kegiatan biologis. Pada pokok bahasan ini akan dibahas tentang metabolisme dari tiga kelompok senyawa organik yang penting, yaitu: karbohidrat, lemak, dan protein.

C. Materi

1. KATABOLISME KARBOHIDRAT

Karbohidrat adalah produk fotosintesis yang dominan, dan umumnya dimanfaatkan oleh sebahagian besar mikroorganisme sebagai sumber nutrisi. Selanjutnya glukosa digunakan sebagai substrat metabolisme sel. Katabolisme sering juga ditulis sebagai respirasi.

Respirasi dapat terjadi apabila ada oksigen ataupun tanpa oksigen. Respirasi yang berlangsung dengan adanya oksigen disebut Respirasi Aerobik. Sedangkan respirasi yang berlangsung tanpa adanya oksigen disebut Respirasi Anaerobik. Hal ini dapat diikuti pada proses aerobik yang terjadi pada bakteri dan sejumlah sel tumbuhan tinggi. Sejumlah jalur dapat terjadi dalam proses respirasi aerobik, namun sebagai reaksi keseluruhan dari rantai respirasi dapat diringkas sebagai berikut: $C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + H_2O + 38 \text{ ATP}$

glukosa oksigen karbondioksida air

Ringkasan persamaan yang sederhana di atas merupakan hasil dari interaksi yang kompleks dari tiga proses yaitu: glikolisis, siklus Krebs, dan posporilasi oksidatif.

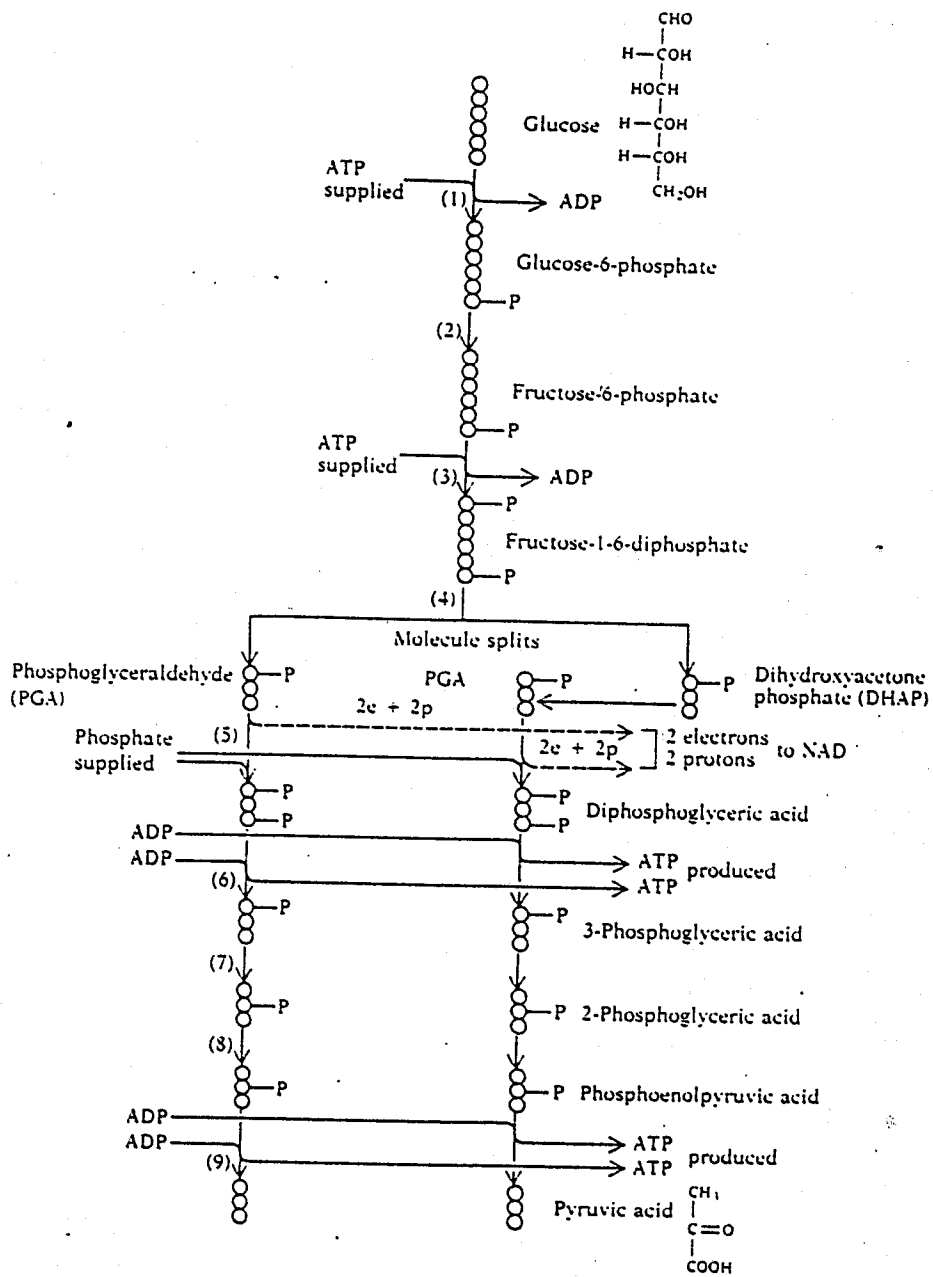
a. Katabolisme Karbohidrat Melalui Respirasi Aerobik

1) Glikolisis

Glikolisis adalah reaksi kimia yang merombak glukosa menjadi asam piruvat. Glyco berarti glukosa dan lysis artinya pemecahan. Lintasan ini pertama kali dikemukakan oleh Gustav Embden dan Otto Meyerhoff pada akhir abad 19, dan dikenal sebagai lintasan Embden-Meyerhoff. Glikolisis tidak mensyaratkan adanya oksigen dan melibatkan sembilan tahap, seperti terlihat pada gambar 11. Setiap tahap dikatalisis oleh enzim spesifik.

Hasil akhir dari glikolisis adalah terpecahnya 1 molekul glukosa 6 karbon menjadi 2 molekul asam piruvat 3 karbon. Untuk setiap molekul glukosa yang mengalami metabolisme, dibutuhkan 2 molekul ATP dan membentuk 4 molekul ATP. Oleh karena itu untuk setiap molekul glukosa yang dirombak melalui glikolisis akan diperoleh hasil bersih 2 molekul ATP.

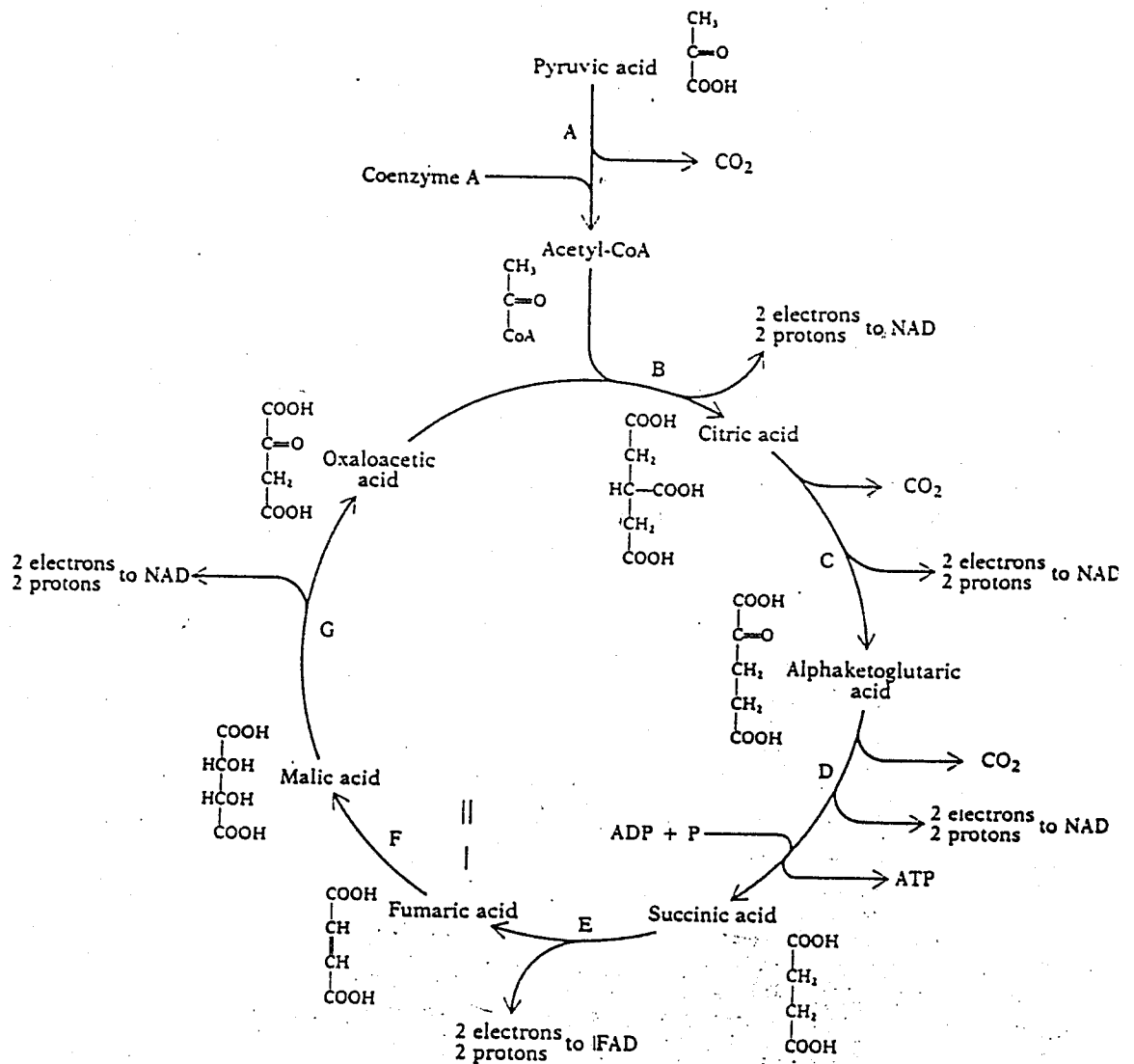
UNIV. NEGERI PADANG



Gambar 12. Glikolisis dari lintasan Embden-Meyerhoff (Alcarno, 1983: 127)

2) Siklus Krebs

Siklus Krebs (siklus asam sitrat, siklus asam trikarboksilat) merupakan suatu rangkaian reaksi yang menghasilkan energi dalam bentuk ATP dan molekul-molekul koenzim tereduksi (NADH_2) dan FADH_2 .



Gambar 13. Siklus Krebs (Alcarno, 1983: 128)

UNIV. NEGERI PADANG

Pada siklus ini digunakan asam piruvat yang dihasilkan dalam glikolisis. Pertama sekali, asam piruvat kehilangan satu atom karbon melalui CO_2 , dan molekul sisa akan bergabung dengan koenzim A. Hasil dari reaksi ini adalah asetil-KoA (reaksi A). Dalam reaksi (B), Asetil KoA bergabung dengan Oksaloasetat (asam 4 karbon) membentuk asam sitrat (asam 6 karbon). Kemudian asam sitrat diubah menjadi asam alfaketoglutarat (asam 5 karbon), dan melepaskan satu molekul CO_2 . Disaat alfaketoglutarat diubah menjadi asam suksinat, satu lagi atom carbon dibebaskan berupa CO_2 . Selanjutnya asam suksinat diubah menjadi asam fumarat, kemudian diubah menjadi asam malat. "Langkah terakhir adalah perubahan asam malat membentuk asam oksaloasetat, dan terbentuklah suatu siklus yang lengkap. Siklus Krebs merupakan lintasan lazim bagi oksidasi karbohidrat membentuk CO_2 dan H_2O .

Pembentukan asam piruvat dari perombakan glukosa "(reaksi Glikolisis) berlangsung di luar mitokondria. Kemudian piruvat memasuki mitokondria dan dimetabolis. Fosforilasi oksidatif hanya terjadi "di dalam mitokondria.

Energi yang dihasilkan dalam respirasi aerobik

Besarnya energi yang dihasilkan dari respirasi aerobik satu molekul glukosa dapat dilihat apabila elektron yang tersimpan di dalam molekulmolekul koenzim tereduksi disalurkan ke dalam rantai angkutan elektron. Elektron-elektron tersebut dipindahkan secara

bertahap dari pembawa-pembawa koenzim ke oksigen molekuler, dan pemindahan ini seiring dengan pembentukan ATP melalui fosforilasi oksidatif. Untuk setiap molekul glukosa yang diuraikan terdapat 12 koenzim tereduksi yang dioksidasi, yaitu: 2 FADH_2 (1 dari setiap putaran siklus Krebs) dan 10 NADH_2 (2 dari Glikolisis, 2 dari langkah pintu gerbang antara glikolisis dan siklus Krebs, dan 6 dari dua putaran siklus Krebs). Karena ada 3 ATP dihasilkan dari setiap NADH_2 dan 2 ATP dari setiap FADH_2 , maka seluruhnya ada 34 ATP dihasilkan dari koenzim tereduksi melalui fosforilasi oksidatif dari rantai respirasi. Tetapi hasil total ATP dari respirasi aerobik satu molekul glukosa adalah 38 ATP, dimana 34 ATP dihasilkan dari koenzim-koenzim tereduksi, 2 dari glikolisis dan 2 dari reaksi samping siklus Krebs (yaitu dari 2 GTP). Jadi hasil ATP total per molekul glukosa dari respirasi aerobik dapat disimpulkan sebagai berikut:

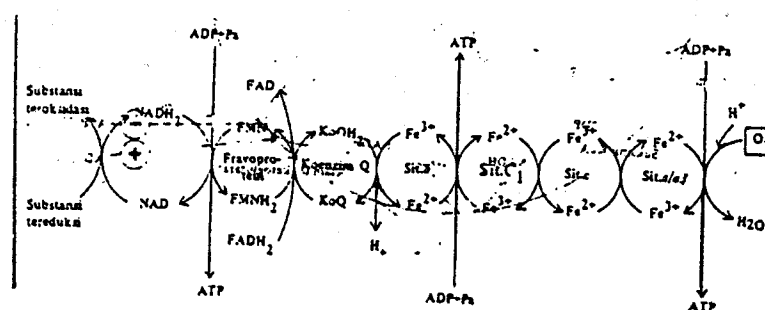
	6 ATP (2 NADH_2)	18 ATP (6 NADH_2)	
		4 ATP (2 FADH_2)	
		2 ATP (2 GTP)	
	8 ATP	6 ATP	24 ATP = 38 ATP
Glikolisis	langkah pintu	Siklus Krebs	

3) Fosforilasi Oksidatif

Di dalam rantai angkutan elektron (rantai respirasi) terjadi serangkaian reaksi oksidasi-reduksi untuk pembentukan ATP. Fungsi rangkaian reaksi ini ialah untuk menerima elektron dari senyawa-

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

senyawa tereduksi, dan memindahkannya pada oksigen sehingga terbentuk air. Pada beberapa langkah dalam rantai tersebut, dibebaskan energi cukup besar untuk pembentukan ATP. Sintesis ATP ini disebut fosforilasi oksidatif. Fosforilasi Oksidatif merupakan tahap ke tiga dari proses Respirasi Aerobik. Fosforilasi oksidatif ini sangat penting karena membebaskan energi cukup besar untuk pembentukan ATP dari ADP dan fosfat anorganik.



Gambar 14. Fosforilasi Oksidatif (Pelczar, 1986: 355)

Pada gambar terlihat ada dua koenzim yang berperan di dalam fosforilasi oksidatif, yaitu NAD (Nicotinamide Adenine Dinucleotide) dan FAD Flavin Adenine Dinucleotide). Senyawa yang akan "dioksidasi (substrat), mula-mula bereaksi dengan NAD. Dua elektron dan dua

H^{++} dipindahkan ke NAD, sehingga direduksi menjadi $NADH_2$. Selanjutnya $NADH_2$ memindahkan dua elektron dan dua ion H ke FAD (flavin adenine dinukleotide) atau FMN flavin mononukleotide), dan sitokrom-sitokrom yang mengandung besi, terakhir pada oksigen molekuler yang berakibat terbentuknya air. Untuk setiap $NADH_2$ yang dioksidasi menjadi NAD akan terbentuk tiga molekul ATP. Sedangkan pasangan elektron dari $FADH_2$ memasuki rantai respirasi setelah elektron dari $NADH_2$, sehingga untuk setiap $FADH_2$ yang dioksidasi menjadi FAD, hanya dua molekul ATP yang terbentuk dalam fosforilasi oksidatif.

b. Katabolisme karbohidrat melalui Respirasi Anaerobik

Pada respirasi anaerobik, sejumlah molekul anorganik selain O_2 digunakan sebagai penerima elektron, ATP dibentuk dari ADP dan ion fosfat selama transfer. *Serratia* dan *Pseudomonas* menggunakan ion nitrat (NO_3^-) sebagai penerima elektron, dan ion ini akan diubah menjadi ion nitrit (NO_2^-). Sejumlah *Desulfovibrio* menggunakan ion sulfat (SO_4^{--}) sebagai penerima elektron, dan merubahnya menjadi hidrogen sulfida (H_2S).

Fermentasi

Fermentasi adalah suatu tipe respirasi anaerobik apabila O_2 tidak digunakan dalam proses. Bakteri anorganik fakultatif dan bakteri anorganik obligat menggunakan berbagai macam fermentasi untuk menghasilkan energi. Salah satu contoh yang khas adalah

fermentasi laktat yang diperankan oleh bakteri *Streptococcus lactis* (penyebab masamnya susu). Spesies ini menguraikan glukosa menjadi asam laktat, dan terakumulasi di dalam medium sebagai produk fermentasi satu-satunya. Melalui glikolisis satu molekul glukosa diubah menjadi dua molekul asam piruvat disertai terbentuknya dua NADH_2 . Selanjutnya asam piruvat tersebut diubah menjadi asam laktat.

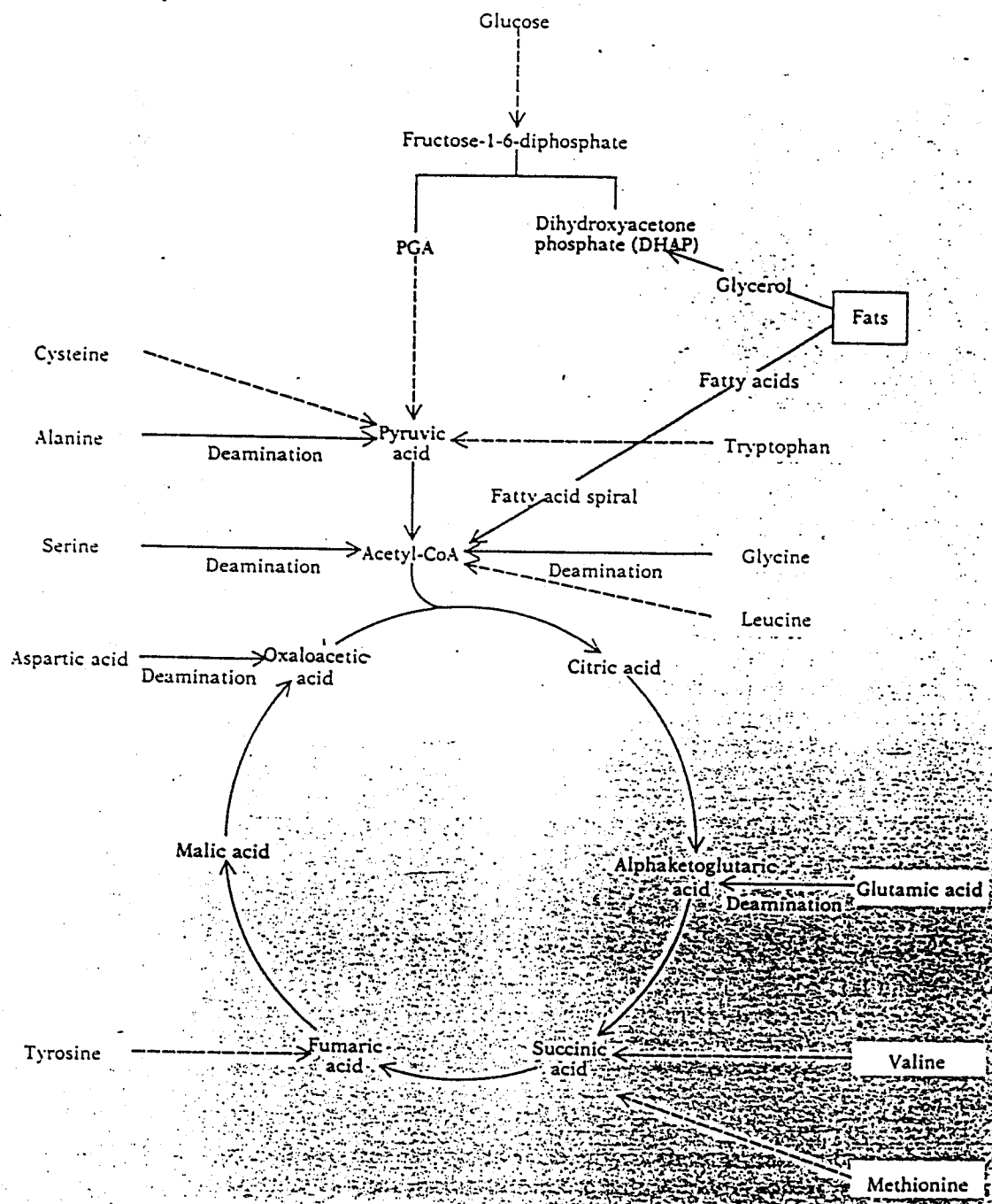
C Katabolisme Protein dan Lemak

Protein dan Lemak juga digunakan oleh sejumlah mikroorganisme tertentu dalam reaksi glikolisis dan siklus Krebs sebagai sumber energi. Suatu perubahan rangkaian yang kompleks terjadi, dimana protein dan lemak diubah secepat mungkin sehingga dapat masuk ke senyawa intermediet dari glikolisis maupun siklus Krebs.

Protein pertama sekali diuraikan oleh bakteri penghasil peptidase menjadi asam-asam amino. Asam asam amino individu diubah menjadi senyawa intermediet yang dapat masuk ke dalam siklus Krebs. Masuknya asam-asam amino ini ke dalam siklus Krebs dapat melalui bermacam-macam senyawa. Misalnya alanine menjadi asam piruvat, glisine diubah menjadi asetil KoA, asam glutamat menjadi asam ketoglutarat, asam aspartat menjadi asam oksaloasetat. Sebagaimana yang telah diketahui bahwa senyawa-senyawa ini merupakan metabolisme dari glukosa.

Lemak merupakan molekul yang terdiri dari gliserol dan asam lemak, dimana katabolismenya dibantu oleh enzim lipase. Gliserol diubah menjadi Dihydroxyacetone phosphate (DHAP) yang dapat segera diubah menjadi PGA, dan selanjutnya karbon membentuk asam piruvat dalam glikolisis.

Asam lemak memasuki suatu seri yang disebut spiral asam lemak. Setiap asam dipecah ke dalam dua unit karbon, dan membentuk asetil KoA. Akhirnya Asetil KoA segera memasuki siklus Krebs. Hanya sejumlah kecil bakteri yang efektif menggunakan katabolisme lemak ini, karena terbatasnya daya larut lemak seperti pada gambar 15.



Gambar 15. Metabolisme asam amino dan lemak (Alcarno, 1983: 136)

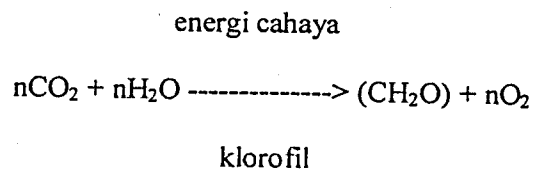
MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

2. ANABOLISME (ASIMILASI)

Pada sejumlah bakteri dapat terjadi reaksi bolak balik antara hasil katabolisme dan anabolisme Karbohidrat. Hal ini dapat terjadi karena reaksi enzim yang dapat balik, sehingga hasil akhir dapat diubah kembali menjadi molekul substrat.

Fotosintesis pada mikroorganisme

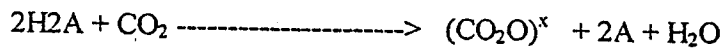
Pada alga hijau-biru terdapat klorofil yang membantu pembentukan karbohidrat dari CO₂ dalam reaksi fotosintesis. Di dalam reaksi fotosintesis diperlukan cahaya sebagai sumber energi. Agar CO₂ dapat digunakan dalam metabolisme, maka pertama-tama harus direduksi menjadi karbohidrat. Proses yang menggunakan cahaya untuk mengubah karbondioksida menjadi karbohidrat disebut fotosintesis. Reaksi keseluruhan fotosintesis dapat ditulis sebagai berikut:



Dalam reaksi di atas, (CH₂O) hanya suatu singkatan untuk karbohidrat lain dengan formula empiris yang sangat dekat. Proses ini mempunyai dua persyaratan penting yaitu: sejumlah besar energi dalam bentuk ATP dan sejumlah besar reduktan kimiawi, dalam hal ini air. Beberapa kelompok bakteri yaitu bakteri fotoautotrofik hijau dan ungu juga dicirikan dengan adanya pigmen yang disebut bakterioklorofil, sehingga mampu melakukan fotosintesis. Tetapi lain halnya dengan tumbuhan, alga,

UNIV. NEGERI PADANG

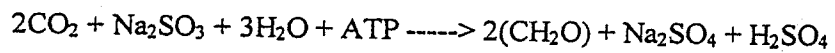
dan sianobakteri, bakteri-bakteri ini tidak menggunakan air sebagai reduktan kimiawinya dan juga tidak menghasilkan oksigen sebagai salah satu produk akhir fotosintesisnya. Persamaan umum bagi fotosintesis bakteri adalah: cahaya



bakterioklorofil . karbohidrat

Dalam reaksi di atas, reduktan kimiawinya adalah H_2A , misalnya: senyawa anorganik H_2 , H_2S , atau $\text{H}_2\text{S}_2\text{O}_3$, atau senyawa organik laktat atau suksinat, Bila H_2A dalam persamaan ini adalah H_2S , maka A adalah S (sulfur). Kemungkinan lain sebagai reduktan kimiawi adalah sodium sulfit, dengan reaksi sebagai berikut:

cahaya



sodium sulfit

bakterioklorofil-

sodium sulfat

3. ENZIM DAN PENGENDALIANNYA

Kerja sel hidup dapat dibandingkan dengan pabrik kimia yang sangat efisien. Enzim adalah pekerja dalam pabrik sel ini, sibuk memecah bahan baku (zat gizi yang masuk ke dalam sel) dan merakitnya kembali menjadi produk untuk membantu pertumbuhan sel, memperbaiki sel, membuat sel baru, dan menghasilkan energi. Jadi tidak akan ada kehidupan tanpa enzim. Di dalam sebuah sel terdapat ribuan jenis enzim yang berbeda. Semua kegiatan enzim yang terdapat di dalam sel hidup harus terkoordinasi sedemikian rupa sehingga produk-produk yang sesuai dapat terbentuk dan tersedia pada tempat yang tepat, dalam jumlah dan waktu yang tepat, dan dengan penggunaan energi seminimum mungkin. Koordinasi ini dimungkinkan oleh adanya pengendalian enzim.

a. Enzim adalah katalis hayati

Katalis, walaupun dalam jumlah yang amat sedikit, enzim mempunyai kemampuan untuk mempercepat berlangsungnya reaksi kimiawi. Selain itu, enzim tidak diubah oleh reaksi yang dikatalisnya dan tidak mengubah kedudukan normal dari kesetimbangan kimia. Dengan kata lain, enzim dapat membantu mempercepat pembentukan produk, tetapi akhirnya jumlah produk tetap sama dengan produk yang diperoleh tanpa enzim. Enzim menyusun sebahagian besar dari protein total dalam sel. Suatu sel dapat memuat 3000 jenis molekul enzim dan sejumlah besar molekul dari setiap jenis. Ada dua tipe enzim, yaitu: enzim ekstraseluler atau eksoenzim (berfungsi di luar sel), dan enzim intraseluler atau

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

endoenzim (berfungsi di dalam sel). Eksoenzim berfungsi melakukan perubahan-perubahan seperlunya pada nutrien di sekitarnya sehingga memungkinkan nutrien tersebut memasuki sel. Enzim intraseluler berfungsi mensintesis bahan selular dan juga menguraikan nutrien untuk menyediakan energi yang dibutuhkan sel.

Manusia telah memanfaatkan daya katalis enzim sejak zaman prasejarah. Fermentasi gula buah menjadi alkohol oleh enzim khamir telah sejak amat lama ditemukan. Yogurt, makanan kuno yang kini populer, dibuat melalui kerja enzim dari berbagai bakteri, terutama *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, dan *Lactobacillus acidophilus*. Membuat bir dari biji-bijian, mengadoni roti dengan khamir, dan memfermentasi air kelapa menjadi cuka adalah penerapan lain dari daya katalis enzim.

b. Sistem Nomenklatur

Enzim yang mula-mula diberi nama ialah zimase yang terdapat dalam ragi dan diastase. Nama diastase diambil berdasarkan daya kerja diastase yang dapat memisahkan atau mengubah pati yang tidak larut menjadi larut.

Selama abad sembilan belas, banyak sekali nama diberikan kepada enzim dan semuanya mempunyai akhiran "in" yang didahului oleh substrat yang dicerna atau "dipecahkannya, atau asal dari enzim tersebut. Misalnya: pepsin, papain, fisin, tripsin, pankreatin, emulsin, dan ptialin. Sebagian nama-nama tersebut hingga kini masih digunakan.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

1925

Pada akhir abad kesembilan belas, E. Duclaux mengusulkan penggunaan akhiran baru yaitu "ase" yang mengakhiri nama substrat. Akhiran ase digunakan untuk enzim tunggal, misalnya suksinat dehidrogenase. Contoh lainnya adalah protease, peptidase, pektinase, dan amilase. Enzim-enzim tersebut berturut-turut bekerja pada protein, peptida, pektin, dan amilosa atau pati. Nama-nama tersebut ternyata masih sangat umum, karena itu timbul cara penamaan baru yang lebih spesifik. Protease adalah enzim yang mencerna protein, tapi belum begitu jelas benar, karena protein banyak sekali ragamnya. Oleh karena itu timbul nama kolagenase, elastase, keratinase, dan sejumlah nama lainnya yang tergolong enzim protease.

Untuk penamaan suatu kompleks yang terdiri dari beberapa enzim berdasarkan reaksi keseluruhan yang dikatalisisnya digunakan kata sistem, misalnya sistem suksinat oksidase, yang mengkatalisis oksidasi asam suksinat oleh oksigen dalam beberapa langkah dan beberapa individu enzim.

Karena begitu banyak cara penamaan enzim, maka dipandang perlu untuk menyusun suatu sistem penamaan enzim yang lebih baik. Menurut klasifikasi internasional, berdasarkan tipe reaksi yang dikatalisisnya enzim dikelompokkan ke dalam enam kelas utama yaitu: oksidoreduktase, transferase, hidrolase, liase, isomerase, dan ligase.

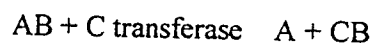
MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

1) Oksidoreduktase

Oksidoreduktase adalah enzim yang dapat mengkatalisis reaksi oksidasi atau reduksi suatu substrat. Dalam golongan enzim ini terdapat dua macam enzim yang paling utama yaitu oksidase dan dehidrogenase. Oksidase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi antara substrat dengan molekul oksigen. Yang termasuk enzim oksidase misalnya: katalase, peroksidase, tirosinase, dan asam askorbat oksidase. Dehidrogenase adalah enzim yang aktif dalam pengambilan atom hidrogen dari substrat. Selama reaksi ini atom hidrogen diambil oleh ko-enzim, misalnya FAD (Flavin Adenine Dinucleotide). Contoh enzim dehidrogenase adalah suksinat dehidrogenase yang memecah asam suksinat menjadi asam fumarat, glutamat dehidrogenase yang memecah asam glutamat menjadi asam ketoglutarat dan NH_3 , dan laktat dehidrogenase yang memecah asam laktat menjadi asam piruvat

3) Transferase

Enzim transferase adalah enzim yang ikut serta dalam reaksi pemindahan (transfer) suatu radikal atau gugus



----->

Enzim-enzim yang termasuk dalam golongan ini adalah transglukosidase, transfosforilase, transaminase, dan transasetilase. Contoh enzim transglukosidase adalah fosforilase, yaitu yang dapat memecahkan ikatan glikosida D-glukosa-1-fosfat. Enzim transfosforilase

UNIV. NEGERI PADANG

berfungsi memindahkan gugus fosfat dari satu molekul ke molekul lainnya. Sebagai contoh, enzim heksokinase dapat memindahkan gugus fosfat dari ATP yang berenergi tinggi kepada heksosa menghasilkan heksosa-monofosfat dan ADP. Enzim transaminase berfungsi mengkatalisis reaksi antara asam amino α dan asam α -keto menghasilkan asam amino baru dan asam keto baru. Sebagai contoh, reaksi antara asam glutamat dan asam oksaloasetat menghasilkan asam α -ketoglutarat dan asam aspartat. Enzim transmetilase mengkatalisis pemindahan gugus metil dari satu molekul ke molekul lainnya. Sebagai contoh, memindahkan gugus metil dari metionin ke asam guanidoasetat membentuk homosistein dan kreatin. Enzim transasetilase ikut serta dalam akasi ko-enzim A, yaitu membentuk molekul bergugus asetil yang disebut asetil ko-enzim A. Enzim ini dapat memindahkan gugus asetil dari asetil-KoA kepada kolin membentuk ko-enzim A (KoA) dan asetil-kolin.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

3). Hidrolase

Enzim hidrolase merupakan kelompok enzim yang sangat penting dalam pengolahan pangan, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis suatu substrat atau pemecahan substrat dengan pertolongan molekul air. Enzim-enzim yang termasuk dalam golongan ini adalah lipase yang menghidrolisis ikatan ester pada lemak alami menjadi gliserol dan asam lemak, glikosidase menghidrolisis ikatan glikosida, aminopeptidase atau tripsin menghidrolisis ikatan peptida,

urease menghidrolisis urea menjadi amino dan CO_2 , dan sebagainya. Di samping itu banyak lagi enzim yang termasuk hidrolase, di antaranya adalah karboksilesterase, pektin metil esterase, pektase, amilase, amilase, invertase, dan selulase.

4) Liase

Enzim liase adalah yang aktif dalam pemecahan ikatan C-C dan ikatan C-O dengan tidak menggunakan molekul air. Yang termasuk dalam golongan enzim ini adalah enzim dekarboksilase yang memecah ikatan C-C dan enzim karbonat anhidrase yang memecah ikatan C-O.

5) Isomerase

Isomerase adalah enzim yang mengkatalisis reaksi perubahan konfigurasi molekul dengan cara pengaturan kembali atom-atom dalam molekul substrat, sehingga dihasilkan molekul baru yang merupakan isomer dari substrat, atau dengan perubahan isomer posisi misalnya merubah aldosa menjadi ketosa. Sebagai contoh: enzim fosfoheksosaisomerase dapat mengubah glukosa 6-P menjadi fruktosa 6-P

6) Ligase

Ligase adalah enzim yang mengkatalisis pembentukan ikatan tertentu, misalnya pembentukan ikatan C-O, C-C, dan C-S dalam

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

biosintesis ko-enzim A serta pembentukan ikatan C-N dalam sintesis glutamin.

c. Daya Katalitik Enzim

Sifat-sifat istimewa enzim yang menonjol adalah kapasitas katalitik dan spesifitasnya yang sangat tinggi. Disamping itu enzim mempunyai peran dalam transformasi berbagai jenis energi..

Pada umumnya enzim dapat mempercepat laju reaksi paling sedikit 1 juta kali. Dalam sistem biologis tidak akan terjadi reaksi yang berarti tanpa adanya enzim, bahkan reaksi yang sangat sederhana seperti hidrasi CO₂ pun dikatalisis oleh enzim.

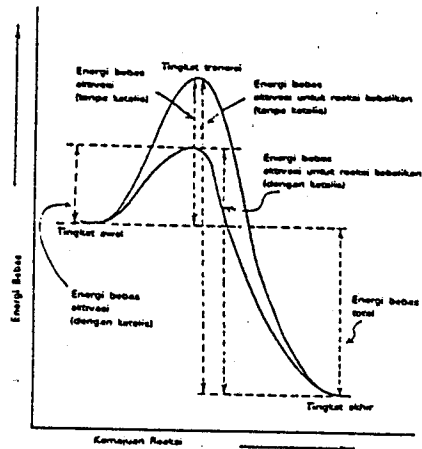
Biasanya suatu enzim hanya mengkatalisis satu jenis reaksi 3 saja. Enzim proteolitik mempunyai variasi pemilihan substrat yang lebih luas. Misalnya enzim subtilin, tidak memilih jenis ikatan peptida yang harus dipecah, sedang tripsin lebih spesifik lagi karena hanya mau memecah ikatan peptida pada belahan karboksil dari residu lisin atau arginin. Enzim trombin yang berperan dalam penggumpalan darah, hanya memecah peptida antara arginin dan glisin.

d. Mekanisme Kerja Enzim

Yang menjadi pokok dalam teori mengenai mekanisme kerja enzim adalah konsep aktivasi substrat yang terjadi setelah pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Aktivasi memungkinkan substrat diubah oleh kerja enzim. Kerja enzim pada umumnya mempercepat reaksi dengan cara menurunkan energi aktivasi. Energi aktivasi adalah jumlah energi yang

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

dibutuhkan untuk membawa suatu substansi ke status reaktifnya. Dengan bergabungnya enzim dan substrat, terjadilah pola reaksi yang berbeda, yaitu tingkat transisi (C) mempunyai energi yang lebih rendah dibanding bila tidak ada enzim.



Gambar 16. Aktivasi enzim dengan hidrolisis pada peptida tertentu

Cara menurunkan energi aktivasi biasanya dengan pembentukan kompleks enzim-substrat (ES). Substrat terikat enzim pada bagian tertentu yang sangat spesifik dan disebut lokasi aktif (active site). Sebagian besar enzim sangat selektif pengikatannya terhadap substrat, dan tingginya spesifitas setiap enzim sebagian besar tergantung dari ketelitian pengikatan.

UNIV. NEGERI PADANG

e. Lokasi Aktif Enzim

Tidak seluruh permukaan enzim aktif, dan bagian yang aktif relatif kecil. Bagian aktif dari enzim adalah bagian enzim yang dapat mengikat substrat dan gugusan prostetik bila ada.

Ketegangan atau distorsi yang dihasilkan pada beberapa ikatan pada molekul substrat membuat enzim itu labil, dan karenanya mengalami perubahan sebagaimana ditentukan oleh enzim yang bersangkutan. Molekul-molekul yang telah mengalami perubahan itu tidak lagi mempunyai afinitas terhadap lokasi-lokasi aktif tadi dan karenanya dilepaskan. Enzimnya kemudian bebas untuk bergabung lagi dengan substrat berikutnya, dan demikianlah proses tersebut berulang.

f. Kondisi yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim

Keadaan-keadaan yang mempengaruhi aktivitas enzim diantaranya adalah konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, pH, dan suhu. Pada umumnya terdapat hubungan optimum antara konsentrasi enzim dan substrat bagi aktivitas maksimum. Setiap enzim berfungsi secara optimal pada pH dan temperatur tertentu. Apabila terjadi penyimpangan-penyimpangan dari keadaan optimum mengakibatkan berkurangnya aktivitas enzim. Hal ini berlaku untuk semua enzim. Keragaman pH yang ekstrim bahkan dapat merusak enzim. Suhu yang tinggi (misal: pendidihan) selama beberapa menit akan mendenaturasikan sebagian besar enzim, sebaliknya suhu rendah dapat menghentikan aktivitas enzim tapi tidak

menghancurkannya. Banyak enzim dapat diawetkan dengan cara menyimpannya pada suhu sekitar 0°C atau kurang.

g. Penghambatan Kerja Enzim

Hambatan enzim dapat dikelompokkan ke dalam tipe nonreversibel (tidak dapat balik) dan reversibel (dapat balik). Hambatan nonreversibel biasanya menyangkut modifikasi atau menjadi tidak aktifnya satu atau lebih gugusan fungsional enzim tersebut. Hambatan reversibel dapat dibagi dua tipe yaitu: kompetitif dan nonkompetitif. Hambatan kompetitif dapat dibalik dengan cara menambah konsentrasi substrat, sedangkan yang nonkompetitif tidak dapat.

h. Pengendalian Enzim

Pengendalian metabolime seluler pada akhirnya menyangkut kepada pengendalian kegiatan enzim. Aktivitas enzim dapat diatur melalui dua cara, yaitu:

- 1) Pengendalian katalisis secara langsung, dapat terjadi dengan mengubah konsentrasi substrat atau reaktan. Bila konsentrasi substrat bertambah, maka laju reaksi meningkat sampai tercapai suatu nilai pembatas. Bila terjadi penumpukan produk, maka laju reaksi menurun. Selain itu, konsentrasi koenzim dan kofaktor dapat memberikan pengaruh pengendalian di dalam sel.
- 2) Pengendalian genetik, melibatkan induksi dan represi sintesis enzim pada taraf genetik.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

D. Rangkuman

1. Metabolisme merupakan proses biokimia yang terjadi pada makhluk hidup, meliputi proses pembebasan energi melalui perombakan material organik dan proses penggunaan energi untuk sintesis senyawa organik.
2. Di dalam katabolisme karbohidrat melalui respirasi aerob berlangsung dalam tiga tahap, yaitu: Glikolisis, Siklus Krebs, dan Fosforilasi Oksidatif
3. Fermentasi merupakan tipe respirasi anaerobik jika tidak menggunakan oksigen bebas.
4. Sejumlah mikroorganisme tertentu menggunakan protein dan lemak sebagai sumber energi, dimana kedua molekul ini diubah secepat mungkin sehingga dapat masuk ke senyawa intermediet pada glikolisis maupun siklus Krebs.
5. Pada reaksi fotosintesis diperlukan cahaya sebagai sumber energi. Cahaya digunakan untuk mengubah karbondioksida menjadi karbohidrat.
6. Enzim sebagai katalis hayati mampu mempercepat berlangsungnya reaksi kimia. Dikenal dua tipe enzim yaitu enzim ekstraseluler yang berfungsi di luar sel, dan enzim intraseluler yang berfungsi di dalam sel.

E. Evaluasi

1. Jelaskan secara ringkas tentang disimilasi dan asimilasi
2. Jelaskan proses glikolisis dalam lintasan Embden-Meyerhoff
3. Jelaskan perbedaan proses respirasi aerob dengan respirasi anaerob.
4. Jelaskan proses fotosintesis.
5. Jelaskan tentang daya katalitik enzim!
6. Jelaskan tentang cara-cara pengendalian enzim.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

BAB V
GENETIKA MIKROBA

A. Tujuan Khusus Perkuliahan

Setelah membaca bab ini mahasiswa hendaknya mampu:

1. Menjelaskan bagaimana Hershey dan Chase menemukan DNA sebagai materi genetik
2. Menjelaskan pengertian mutasi, bagaimana mutasi terjadi secara biokimia, dan bagaimana agen spesifik bisa menyebabkan mutasi.
3. Menjelaskan pengertian dari minimal medium, prototrof dan auksotrof.
4. Menjelaskan maksud satu gen - satu enzim
5. Menjelaskan prosedur yang ditempuh Lederberg untuk menemukan mutasi alami yang terjadi pada mikrobia.
6. Membedakan antara transformasi konjugasi dan transduksi
7. Menjelaskan pengertian seksduksi dan lisogeni
8. Menjelaskan kegunaan konjugasi dalam pemetaan kromosom bakteri
9. Menjelaskan dengan contoh pengertian plasmid, episom dan bakteriosin, aktor resisten transfer (RTF) dan plasmid metabolik

**MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG**

B. Pendahuluan

Mikroba merupakan organisme yang unik yang banyak dipakai ilmuawan untuk percobaan-percobaan genetika. Bakteri dipakai untuk memecahkan berbagai

permasalahan dalam penelitian materi genetik dan mutasi, bakteri itu antara lain *Streptococcus pneumoniae* dan *E coli*.

Penelitian saat ini juga sudah berkembang ke arah pemakaian bakteri untuk membuat obat-obatan, hormon dan enzim-enzim tertentu yang diperlukan manusia melalui rekayasa genetik. Bab ini akan membahas tentang materi genetik pada mikroba serta aspek-aspek lain yang berkaitan dengan materi genetis tersebut.

C. Materi

1. DNA dan Kromosom

Bahan dasar materi genetik diisolasi pertama kali oleh Frederick Miescher tahun 1868. Bahan itu diberi nama oleh Miescher nuklein karena berasal dari nukleus sel darah merah. Nuklein terdiri dari 14 % nitrogen, 2,5 % pospor. Nuklein yang ditemukan Miescher satu setengah abad yang lalu, sekarang dikenal dengan DNA (Asam Deoksiribonukleat).

Tahun 1881 nuklein ditemukan berasosiasi dengan kromosom, mulai saat itu orang berfikir bahwa nuklein membawa sifat hereditas. Pada tahun 1949 orang berhasil menganalisis bahwa komponen utama yang ditemukan di nukleus itu adalah DNA, penemuan ini sekaligus memperlihatkan bahwa kromosom dibangun oleh DNA.

Penelitian tentang peranan DNA dalam kehidupan telah dimulai sejak tahun 1920 oleh Hershey dan M. Chase. Kedua ahli ini mendemonstrasikan bagaimana bakteriofag berperanan dalam genetika. Virus-virus ini mengandung protein dan DNA, kedua materi ini akan dipindahkan ke sel bakteri selama infeksi. Protein dan

DNA di label menggunakan radio isotop, sulfur-35 untuk protein dan pospor 32 untuk DNA. Percobaan ini menunjukkan bahwa sangat sedikit protein yang masuk ke dalam sel bakteri, dan semua radio isotop P-32 muncul pada bakteri yang terinfeksi. Dengan ini Hershey dan Chase berkesimpulan bahwa DNA merupakan materi genetik.

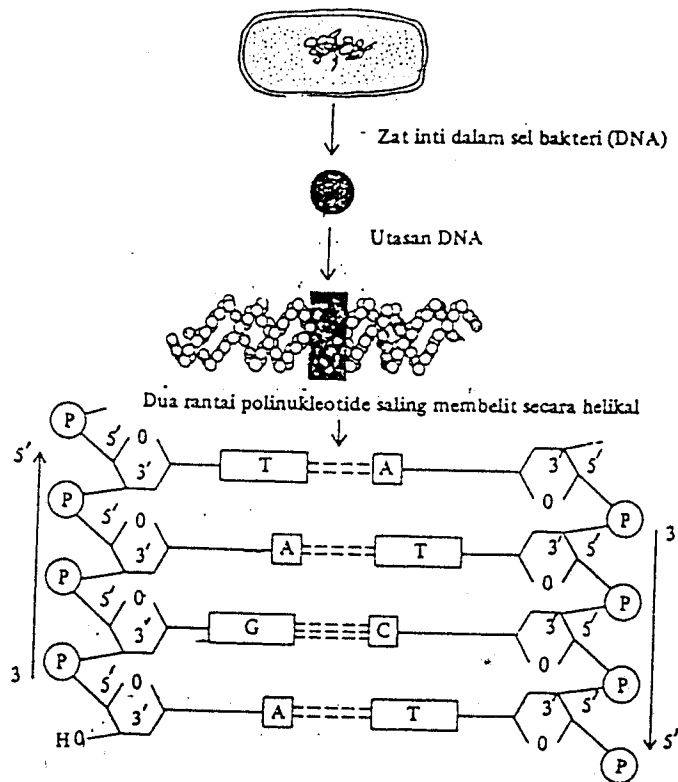
DNA terdiri dari nukleotida-nukleotida. Satu nukleotida dibangun oleh basa nitrogen purin (terdiri dari adenin dan guanin) serta pirimidin (terdiri dari timin dan sitosin) dan gula pentosa pospat. Nukleotida-nukleotida bergabung membentuk rantai polinukleotida. DNA merupakan dua rantai nukleotida yang berlawanan arah (komplementer). Kedua rantai ini digabungkan oleh ikatan yang lemah (ikatan hidrogen) pada basa nitrogennya, dimana adenin selalu berpasangan dengan timin dengan dua buah ikatan hidrogen (A=T), dan guanin selalu berpasangan dengan sitosin dengan tiga ikatan hidrogen (G≡S). Rantai ganda ini saling membelit sehingga membentuk heliks ganda (double helix). Urutan yang berlawanan pada tulang punggung DNA disebut komplementer, dan pasangan polinukleotida yang sesuai disebut rantai komplementer, untuk lebih jelasnya lihat gambar 17

2. Replikasi DNA

Bakteri memiliki kromosom tunggal, berupa molekul DNA sirkuler yang terdiri dari 4.10^6 pasang basa. Replikasi dimulai pada titik tertentu yang disebut titik inisiasi (titik mulai). Titik inisiasi letaknya sudah pasti pada kromosom bakteri.

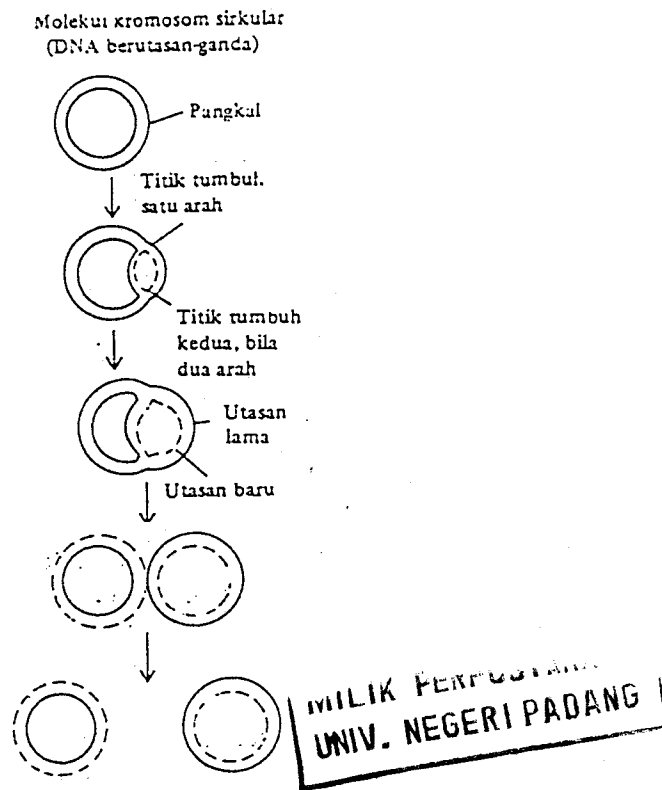
Kedua rantai DNA memisah dan membentuk pola seperti huruf Y, replikasi mulai dari titik inisiasi dari ujung 3' ke ujung 5', artinya rantai komplementer yang terbentuk mulai dari ujung 5' ke ujung 3'.

UNIV. NEGERI PADANG



Gambar 17: Lokasi DNA dalam sel bakteri dan struktur kimia DNA (Pelczar dan Chan, 1988:393).

Replikasi selalu mulai dari ujung 3' ke ujung 5', lalu bagaimana replikasi pada ujung 5' - 3' ? Replikasi rantai DNA ujung 5' - 3', terjadi setahap demi setahap berupa segmen-segmen pendek yang disebut fragmen okazaki dengan arah 5' - 3', lalu fragmen ini digabungkan oleh enzim ligase. Setelah semua rantai DNA bereplikasi maka akan terbentuk dua buah DNA sirkuler baru. Untuk lebih jelasnya lihat gambar 18.



Gambar 18: Replikasi DNA kromosom bakteri yang berbentuk sirkuler

3. Mutasi

DNA berisi kode-kode untuk asam amino. Satu asam amino dikode oleh 3 basa nitrogen yang biasa disebut kodon. Basa nitrogen ada 4 sedangkan asam amino yang harus dikode ada dua puluh. Kombinasi dari 4 basa N pada tiap kodon memungkinkan untuk mengkode 20 asam amino. Ada 64 kemungkinan kodon dari 4 basa N, karena itu ada asam amino yang dikode lebih dari satu kodon.

Bila karena satu sebab, salah satu basa N pada kodon berubah maka asam amino yang dikode juga berubah, hal ini disebut mutasi. Mutasi bisa terjadi secara spontan/alami atau karena dipacu oleh berbagai agen kimia atau fisika. Akibat dari

mutasi DNA tergantung perubahan apa yang terjadi pada kodon. Perubahan pada kodon menyebabkan perubahan pada mRNA yang ditranskripsikan serta bisa jadi asam amino yang terbentuk juga berubah. Bila asam amino berubah maka protein yang disintesis pasti berubah.

Efek dari mutasi juga tergantung pada lokasi asam amino yang dibentuk. Bila asam amino yang berubah berada pada tapak aktif suatu enzim, maka perubahan asam amino yang terbentuk bisa berakibat enzim tidak berfungsi. Mutasi yang lain bisa juga berakibat perubahan struktur enzim, sehingga aktifitas enzim tidak optimal.

Perubahan rangkaian basa nitrogen (mutasi) ada dua tipe, yaitu mutasi titik dan mutasi pergeseran kerangka.

a. Mutasi titik

Mutasi titik terjadi bila satu basa N menggantikan (mensubstitusi) basa N yang ada sehingga rangkaian DNA satu basa N berubah. Bila purin mensubstitusi purin disebut mutasi titik tipe **transisi**. Bila purin disubstitusi oleh pirimidin dikenal dengan **transversi**. Substitusi pasangan basa N pada rantai DNA bisa mengakibatkan:

- 1) Kodon berubah, sehingga mRNA berubah dan asam amino yang dihasilkan berbeda dari yang seharusnya. Mutasi ini dikenal dengan **missense mutation** (mutasi salah arti). Protein yang salah satu asam aminonya berbeda, maka fungsinya tidak normal sebagaimana protein asalnya.

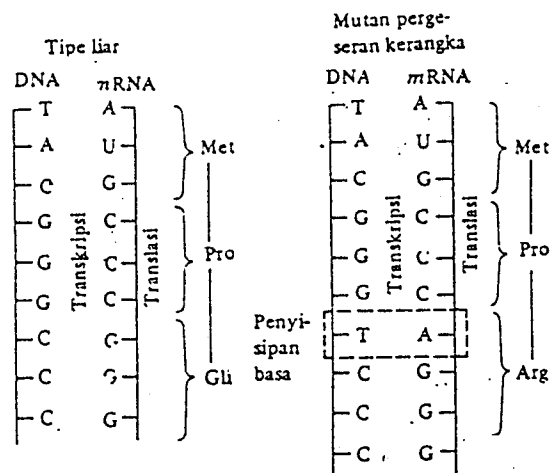
Contohnya anemia bulan sabit, penderita anemia ini memiliki sel darah merah seperti bulan sabit. Hal ini terjadi karena asam amino nomor 6 dari

haemoglobin A berubah dari asam glutamat menjadi valin. Perubahan ini karena kodon yang mengkode asam glutamat (GAG) berubah menjadi GUG, yang mengkode valin. Berarti terjadi penggantian basa nitrogen adenin dengan urasil.

- 2) Kodon berubah menjadi kodon stop, akibatnya sintesis protein terhenti dan protein yang dihasilkan tidak lengkap. Protein yang tidak lengkap tidak bisa berfungsi, mutasi ini disebut mutasi nonsens. Kodon stop ada 3 yaitu UAA, UAG dan UGA.
- 3) Kodon berubah namun asam amino yang dihasilkan tetap. Hal ini bisa terjadi karena ada asam amino yang dikode oleh lebih dari satu kodon. Misalnya leusin dikode oleh UUA dan UUG. Bila Basa nitrogen A pada UUA digantikan oleh G maka asam amino yang dikode tetap. Mutasi ini disebut mutasi netral.

b. Mutasi pergeseran kerangka

Bila terjadi penambahan atau pengurangan basa N pada rantai DNA, maka kodon yang dibaca pada waktu sintesis protein akan bergeser sehingga mutasi ini disebut dengan mutasi pergeseran kerangka. Pergeseran dalam membaca kodon menyebabkan hal yang sama seperti pada mutasi titik. Untuk lebih jelas apa yang dimaksud dengan mutasi pergeseran kerangka dapat dilihat bagan pada gambar 19.



Gambar 19: Mutasi Pergeseran Kerangka (Pelczar, 1986: 416)

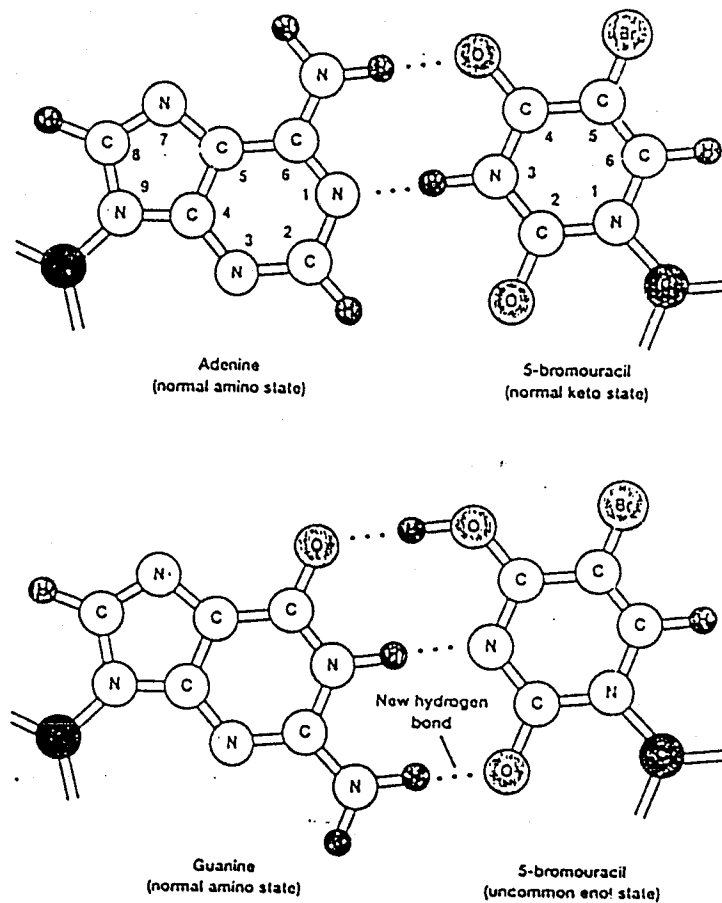
Mutasi paling umum terjadi pada waktu replikasi DNA. Bahan penyebab meningkatnya mutasi disebut mutagen, sedangkan organisme yang mengalami mutasi disebut mutan.

Agen penyebab mutasi (agen mutagenik) ada banyak macam, seperti; sinar X, gas mustard. Sinar X menyebabkan DNA rusak, hal yang sama seperti disebabkan gas mustard. Mustard gas mengandung senyawa kimia yang mutagenik yang disebut juga sebagai agen-agen alkilasi (alkylating agents). Gas ini menyebabkan tersubstitusinya alkil pada basa nitrogen DNA, misalnya pada guanin. Menempelnya alkil pada guanin menyebabkan guanin lebih mudah berpasangan dengan timin (seharusnya dengan sitosin). Pada generasi berikutnya tempat guanin akan diganti oleh adenin yang akan berpasangan dengan timin. Hal ini salah satu penyebab terjadinya mutasi titik.

Bahan lain yang bersifat mutagenik adalah sinar UV (ultraviolet). UV diserap dengan kuat oleh DNA. Beberapa bahan yang memiliki struktur mirip dengan basa nitrogen bisa masuk ke rantai DNA pada waktu sintesis asam nukleat. Adanya molekul yang mirip dengan komponen DNA yang menempel pada rantai DNA menyebabkan kodon tidak bisa dibaca. Misalnya 5 bromouracil (5 BU) masuk ke tempat timin pada rantai DNA. Karena stereokimianya berbeda dengan timin maka 5 bromouracil akan berpasangan dengan timin juga bukan dengan adenin, atau 5 BU akan berpasangan dengan guanin. Akibatnya terbentuk kodon yang salah. Mengapa 5 BU tidak bisa berpasangan dengan adenin dan mengapa lebih cocok berpasangan dengan guanin ?. Untuk menjawab pertanyaan ini dapat diperhatikan gambar 20 yang menggambarkan struktur kimia adenin dengan 5 BU dan guanin dengan 5 BU.

Senyawa lain misalnya acridin, asam nitrat dan lain-lain. Asam nitrat bisa menghilangkan gugus amina (NH_2) yang ada pada adenin, guanin dan sitosin. Bila basa N terdeaminasi, maka dia akan segera berubah menjadi hiposantin, santin dan urasil. Komponen baru ini tidak akan bisa berpasangan dengan purin ataupun pirimidin, sehingga terjadi mutasi titik pada kode genetik.

Keterangan di atas memberikan contoh bagaimana bahan-bahan yang mutagenik bisa merubah kode genetik (kodon).



Gambar 20: Struktur kimia 5 bromouracil , adenin dan guanin. Ketidakcocokan struktur kimia antara 5 BU dengan adenin (a) menyebabkan 5 BU lebih mudah berpasangan dengan guanin (b) (Prescott, et al, 1993: 247)

4. Mutasi pada Mikroba

Mutasi pada mikroba telah menarik perhatian sejak lama. Namun penelitian di bidang ini yang sangat menakjubkan dilakukan oleh George W. Beadle dan Edward L. Tatum (1941). Kedua ahli ini meneliti mutasi pada askomisetes *Neurospora crassa*. Jamur ini biasa tumbuh pada roti dengan warna merah muda.

Neurospora alami (tipe liar) bisa tumbuh pada medium minimal. Medium minimal adalah medium yang mengandung amonium klorida sebagai sumber N,

glukosa sumber C dan energi, sedikit mineral, vitamin dan air. Setelah dilakukan irradiasi dengan sinar X dan UV pada tipe liar, mutan yang dihasilkan tidak mampu lagi tumbuh di medium minimal, mutan ini harus ditumbuhkan pada medium kompleks. Selain itu Beadle dan Tatum menemukan bahwa masing-masing mutan harus ditumbuhkan pada medium kompleks (medium minimal + malt ekstrak + yeast ekstrak) yang telah diperkaya dengan asam amino tertentu. Mutan berbeda membutuhkan asam amino yang berbeda pula, bahkan ada mutan yang memerlukan vitamin atau asam nukleat tertentu.

Organisme yang membutuhkan nutrisi tambahan selain nutrisi induknya disebut dengan organisme **auksotrof**. Sedangkan organisme yang belum mengalami mutasi sehingga bisa hidup di minimal medium disebut **prototrof**.

Ketidak mampuan mutan membentuk asam amino, vitamin atau asam nukleat yang dibutuhkan dalam pertumbuhannya, terbukti karena ketidak mampuan mutan menghasilkan salah satu enzim yang terlibat dalam jamur metaboliknya. Padahal enzim ini mampu dihasilkan oleh organisme prototrof (tipe liar). Karena itu disimpulkan bahwa ketidak mampuan membentuk enzim pada jalur metabolik tertentu pada mutan karena gen-gen pengkode enzim tersebut tidak berfungsi atau rusak akibat irradiasi yang dilakukan. Hal ini tidak terjadi pada tipe liar. Berdasarkan penelitian Beadle dan Tatum diyakini bahwa setiap enzim bahkan setiap protein yang dimiliki oleh satu sel harus dikode oleh satu gen yang sesuai. Hipotesis ini dikenal dengan one gen - one enzym sekarang diperkuat menjadi one gene - one protein.

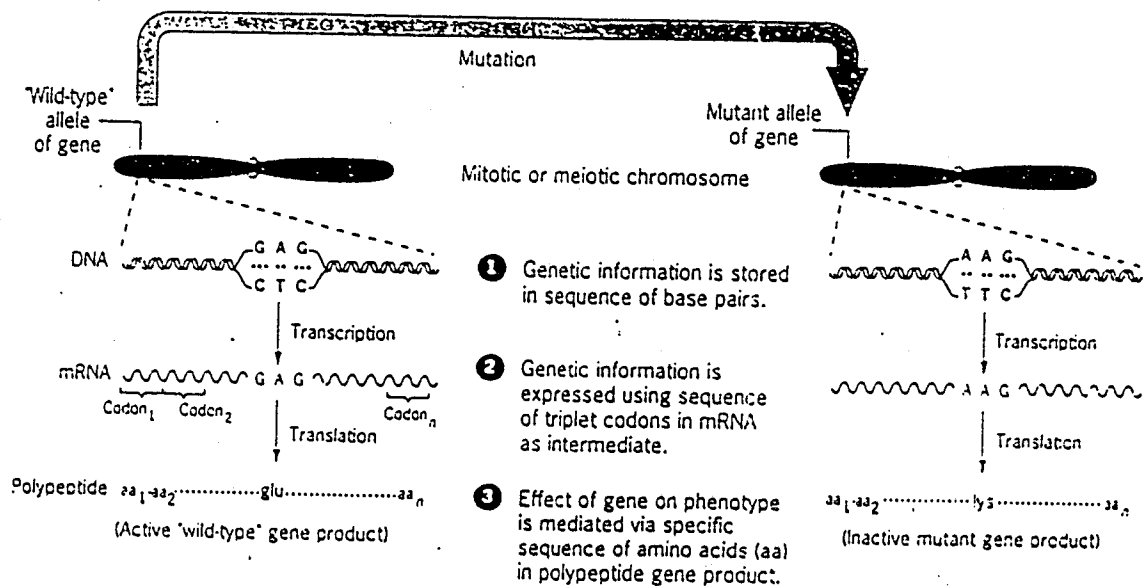
MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG

5. Deteksi dan Isolasi Mutan

a. Deteksi Mutan

Mutasi secara spontan (alami) sangat jarang dan bersifat random. Laju mutasi kira-kira $1/10^7$ - $1/10^{11}$. Untuk itu diperlukan metode pendeteksi yang sangat sensitif supaya tidak terjadi kesalahan.

Terjadinya mutan selain sangat jarang dan bersifat random biasanya bersifat resesif, sehingga tertutupi oleh sifat yang dominan. Hal ini bisa dijelaskan dengan bagan pada gambar 21.



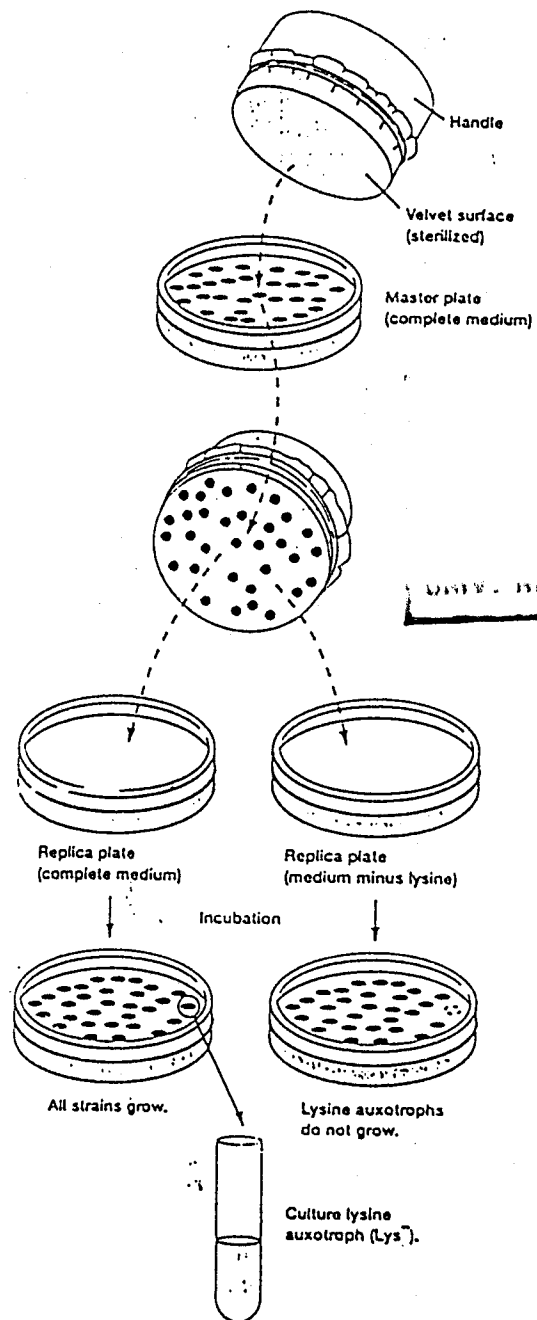
Gambar 21: Skema proses mutasi dan ekspresi gen. Gambar kanan ekspresi gen pada tipe liar, kiri ekspresi gen pada mutan, sifat yang bermutasi tersembunyi (Snustad, Simmons and Jenkins, 1997: 317).

Joshua dan Esther Lederberg (1952) berhasil menemukan cara mendeteksi mutan dengan teknik *cawan replika* (replica plating). Teknik ini menggunakan bakteri tertentu yang belum bermutasi (prototrof). Misal *E coli*. Bakteri ini ditanam

dalam medium cair, setelah tumbuh lalu diberi mutagen (zat pencetus mutasi) seperti nitrosoguanidin. Tanam bakteri yang telah diperlakukan tadi pada cawan berisi medium kompleks. Bakteri ini akan tumbuh membentuk koloni. Siapkan velvet steril (cetakan koloni) lalu tekankan pada cawan yang berisi koloni, sehingga bakteri menempel pada velvet sesuai dengan letaknya di cawan (tempat tumbuh koloni pada cawan awal harus dicatat).

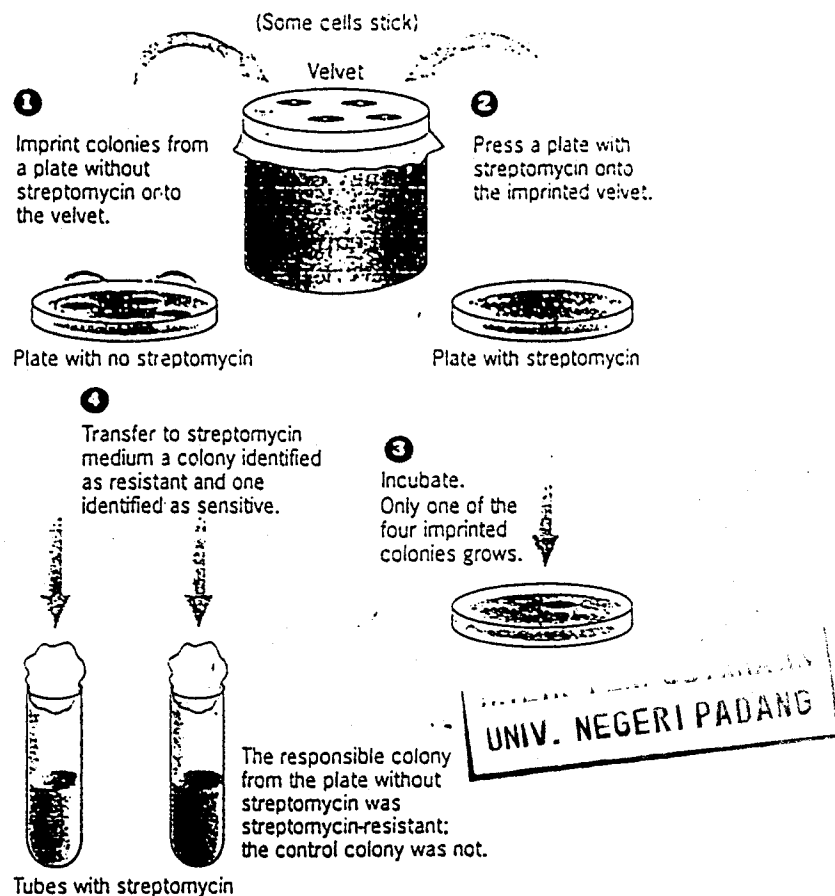
Velvet kemudian ditempelkan pada 2 buah cawan yang mengandung medium berbeda. Cawan pertama berisi medium kompleks, sedangkan cawan kedua berisi medium kompleks tanpa lisin. Setelah inokulasi, cawan diinkubasi dengan suhu sesuai, setelah tumbuh amati koloni yang ada. Pada medium kompleks semua koloni bisa tumbuh, sedangkan pada medium tanpa lisin ada koloni yang tidak tumbuh. Koloni yang tidak tumbuh tersebut berarti mutan, dimana bakteri ini tidak mampu membentuk lisin. Dengan cara ini bisa dideteksi *E coli* yang bersifat auksotrof lisin (lisin⁻). Untuk lebih memahami teknik cawan replika dapat dilihat gambar 22.

MILIK PERPUSTAKAAN
UNIV. NEGERI PADANG



Gambar 22: Prosedur cawan replika yang ditemukan oleh Joshua dan Ederberg (Prescott, 1993: 251)

Teknik cawan replika ini juga bisa dipakai untuk mendeteksi bakteri yang menjadi resisten terhadap antibiotik tertentu. Bagaimana caranya ? lihat gambar 23.

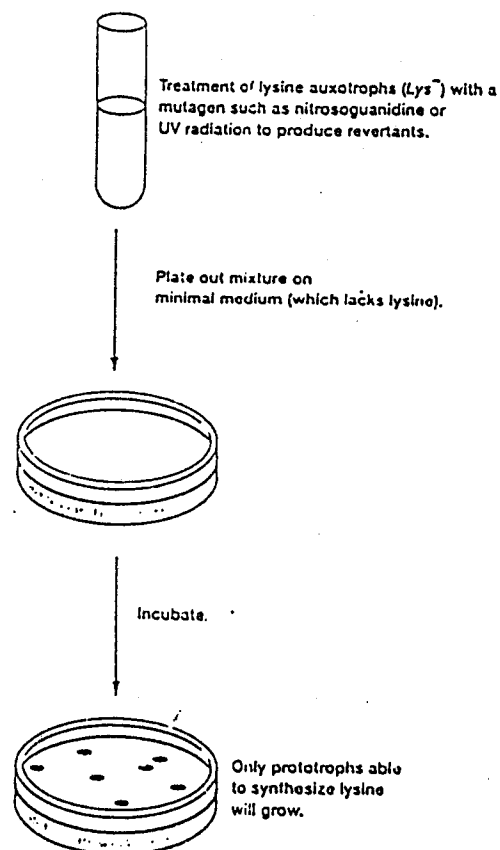


Gambar 22: Teknik cawan replika. Teknik cawan replika untuk mendeteksi bakteri resisten antibiotik streptomisin.

1. Print velvet pada cawan yang mengandung bakteri yang tumbuh pada medium tanpa streptomisin
2. Velvet ini ditekankan pada cawan lain yang berisi medium yang mengandung streptomisin
3. Inkubasi, setelah itu amati, bila ada koloni yang tumbuh berarti koloni ini tahan (resisten) terhadap streptomisin. Koloni yang sensitif akan mati/tidak tumbuh.
4. Uji lanjutnya dimasukkan koloni dari cawan pertama ke dalam 2 tabung yang berisi medium cair + streptomisin. Koloni sensitif pada tabung 1, koloni resisten pada tabung 2. Koloni sensitif akan mati (medium dalam tabung tetap jernih) koloni resisten akan hilang (medium dalam tabung menjadi keruh) (Snustad, Simmon and Jenkins, 1997: 315).

b. Isolasi Mutan

Teknik cawan replika bisa dilanjutkan untuk isolasi mutan. *E coli* auksotrof lisin (lys^-) ditanam dalam medium cair lalu diperlakukan dengan mutagen seperti nitrosoguanidin atau UV. Lalu bakteri ini ditanam dalam cawan berisi minimal medium tanpa lisin. Setelah inkubasi pada cawan akan tumbuh *E coli*. Prototrof yang sebenarnya merupakan hasil mutasi balik (revertant). Sedangkan *E coli* auksotrof tidak akan tumbuh. Cara ini sekaligus



Gambar 23: Seleksi mutan. Gambar ini memberikan contoh bagaimana menseleksi mutan balik (revertant) yang tumbuh pada medium minimal tanpa lisin adalah organisasi prototrof (lys^+) sedangkan lys^- tidak akan bisa tumbuh (Prescott, et al, 1993: 252).

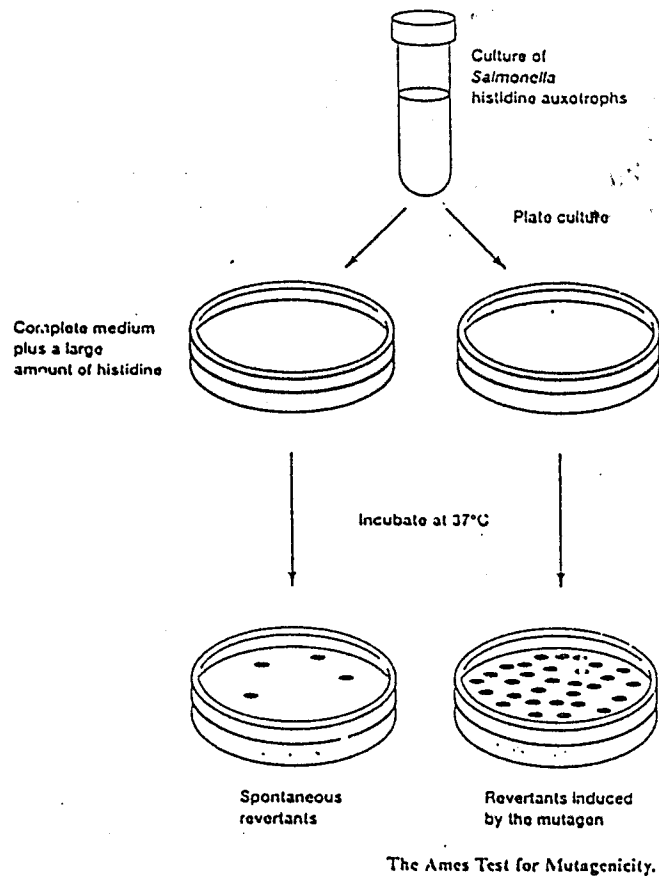
membuktikan bahwa mutasi bisa balik (irreversible). Untuk lebih jelasnya lihat gambar 23.

6. Uji Karsinogenitas

Semenjak meningkatnya pengetahuan tentang mekanisme mutasi dan faktor-faktor pemicu munculnya sel kanker, maka kemauan untuk mengidentifikasi bahan-bahan yang karsinogenik (bersifat memicu kanker) juga meningkat. Kenyataan menunjukkan banyak bahan kimia yang beredar di pasaran baru diketahui berbahaya dan karsinogenik bertahun-tahun bahkan puluhan tahun setelah bahan itu digunakan. Pada awalnya uji karsinogenitas menggunakan mencit, tapi prosedurnya lama dan mahal. Namun cara ini tetap dipakai sampai **Bacce Ames (1970-an)** menemukan uji karsinogenitas dengan menggunakan mikroba, dan cara ini terbukti lebih akurat, cepat dan relatif tidak mahal. Uji karsinogenitas ini disebut tes Ames, untuk menghormati penemunya. Ames menggunakan mutan bakteri *Salmonella typhimurium*. Mutan ini mensintesis lipopolisakarida dinding sel yang sangat pendek, sehingga galur ini mudah menyerap senyawa kimia ke dalam selnya, dalam jumlah yang lebih banyak dari tipe liar. Mutan yang dipakai ini juga tidak mampu memproduksi asam amino histidin sehingga dalam mediumnya harus selalu ditambahkan histidin.

Prosedur kerjanya sebagai berikut: Kultur *Salmonella* auksotrof histidin (his⁻) ditanam dalam dua cawan yang berisi medium berbeda. Cawan pertama berisi medium kompleks dan histidin dalam jumlah besar sedangkan cawan kedua berisi medium yang ditambah zat yang akan diuji karsinogenitasnya dan sedikit histidin,

lalu inkubasi pada 37°C. Setelah inkubasi, pada cawan pertama koloni yang tumbuh sedikit, seharusnya banyak karena medium mengandung histidin. Pada medium kedua koloni yang tumbuh banyak sekali. Hal ini menandakan telah terjadi mutasi balik pada mutan yang digunakan sehingga banyak mutan tidak bisa tumbuh pada histidin yang melimpah. Sedangkan pada cawan kedua mutasi balik dipacu oleh zat yang diuji, terbukti banyak koloni yang terbentuk. Untuk lebih jelasnya lihat gambar 24.



Gambar 24: Uji Ames untuk melihat kemampuan mutagenitas (Prescott, 1993: 251)

Zat yang mampu memacu terjadinya mutasi pada bakteri menurut Uji Ames, 80 % terbukti juga memacu mutasi pada sel hewan. Zat kimia yang menyebabkan

mutasi, besar kemungkinan akan bersifat karsinogenik. Cara ini tidak langsung melihat perubahan sifat menuju sel kanker, namun uji ini dapat diandalkan karena cepat, murah dan mudah serta andal untuk menyeleksi zat/senyawa-senyawa yang bersifat karsinogenik.

7. Rekombinasi pada Prokariot

Proses terbentuknya kombinasi gen baru yang berasal dari dua sel berbeda disebut dengan rekombinasi genetik. Kalau dikaji secara molekuler kromosom baru yang terbentuk tersebut berasal dari DNA parental yang bergabung. Pada bakteri ada 4 proses yang bisa menghasilkan rekombinasi kromosom, yaitu transformasi, konyugasi, seksduksi dan transduksi. Pada prokariota rekombinasi terjadi melalui transfer materi genetik dari sel donor ke sel resipien, tidak melalui fusi sel seperti pada eukariota.

a. Transformasi

Transformasi bakteri pertama diperkenalkan oleh Frederick Griffith (1928). Griffith menggunakan *Streptococcus pneumoniae*. Bakteri ini terbagi atas 2 tipe, yaitu tipe virulen (memiliki kapsul) dan tipe kedua tidak virulen (karena tidak memiliki kapsul). Bakteri ini disuntikkan pada sekelompok mencit dengan cara sebagai berikut: 1) kelompok mencit I, disuntik dengan *S pneumoniae* hidup tipe II; 2) kelompok mencit II, disuntik dengan *S pneumoniae* hidup tipe I yang dimatikan dengan panas; 3) kelompok mencit III, disuntik dengan *S pneumoniae* hidup yang merupakan gabungan tipe II hidup dan tipe I yang dimatikan dengan panas.

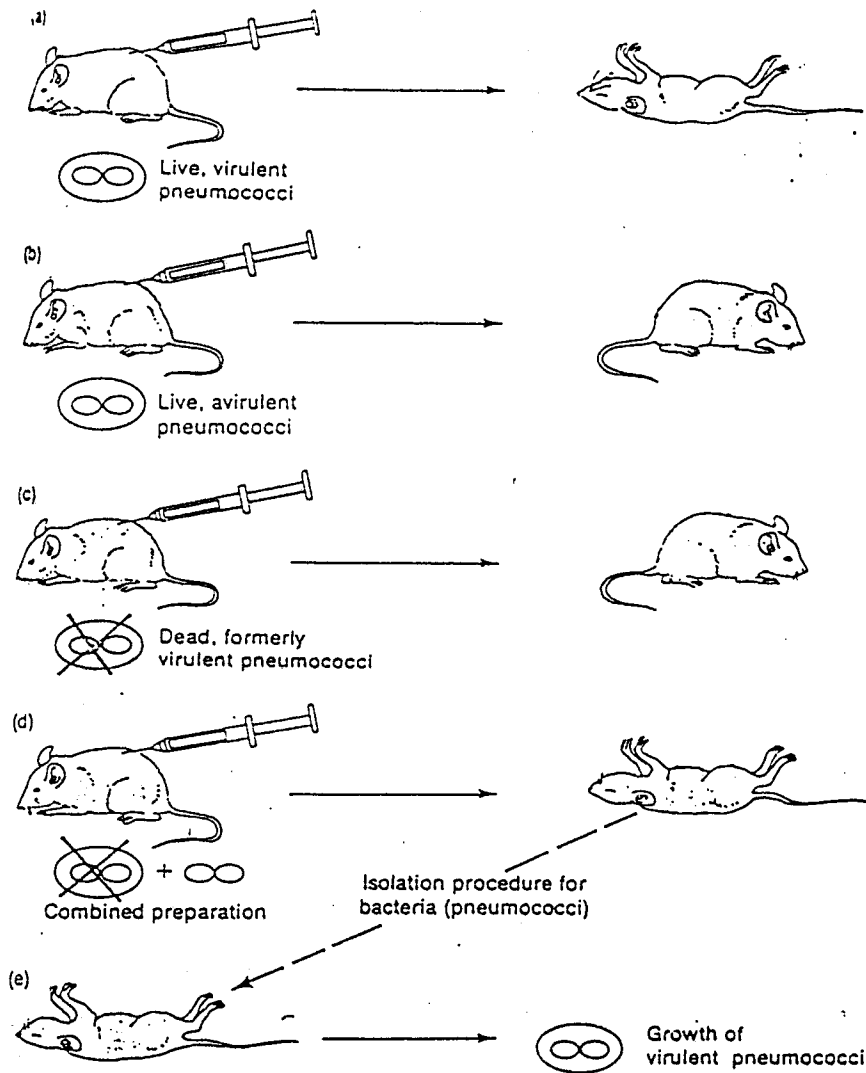
Setelah beberapa hari Griffith memperoleh data: mencit kelompok I dan II tetap hidup sedangkan kelompok III mati. Dari mencit kelompok III yang mati dilakukan isolasi *S pneumoniae*, ternyata yang diperoleh adalah bakteri tipe I hidup. Dari mana asal bakteri ini ? Diperkirakan materi dari bakteri tipe I yang dimatikan bisa masuk ke bakteri tipe II sehingga merubah sifat tipe II menjadi virulen.

Setelah itu diketahui bahwa materi yang pindah itu adalah DNA. Peristiwa pindahnya DNA bebas (bugil) yang mengandung informasi genetik dari satu sel ke sel lainnya disebut **transformasi**. DNA bebas bisa diperoleh dari sel donor dengan cara lisis alami atau cara ekstraksi. Begitu DNA menempel pada DNA sel resipien maka terjadilah **rekombinasi**.

Semenjak penelitian Griffith menggunakan *S pneumoniae* banyak bakteri lain digunakan untuk membuktikan terjadinya transformasi genetik. Bakteri itu antara lain *Haemophilus*, *Bacillus*, *Neisseria*, *Acetobacter*, *Escherichia* dan lain-lain.

Salah satu penelitian menarik adalah transformasi *B subtilis*. Ekstraksi DNA dari hewan yang terinfeksi virus vaccinia bisa dipindahkan ke hewan lain dengan perantara *B subtilis*. Artinya *B subtilis* membawa potongan DNA virus vaccinia dan memindahkannya ke hewan lain sehingga hewan tersebut menjadi sakit, peristiwa ini dikenal dengan **transfeksi**. Hal ini menimbulkan kecemasan, bisa saja virus penyebab penyakit hewan menulari manusia melalui infeksi bakteri tertentu. Dimana bakteri tersebut membawa virus yang bersangkutan. Bagaimana jalan percobaan Griffith dapat dilihat pada gambar 25.



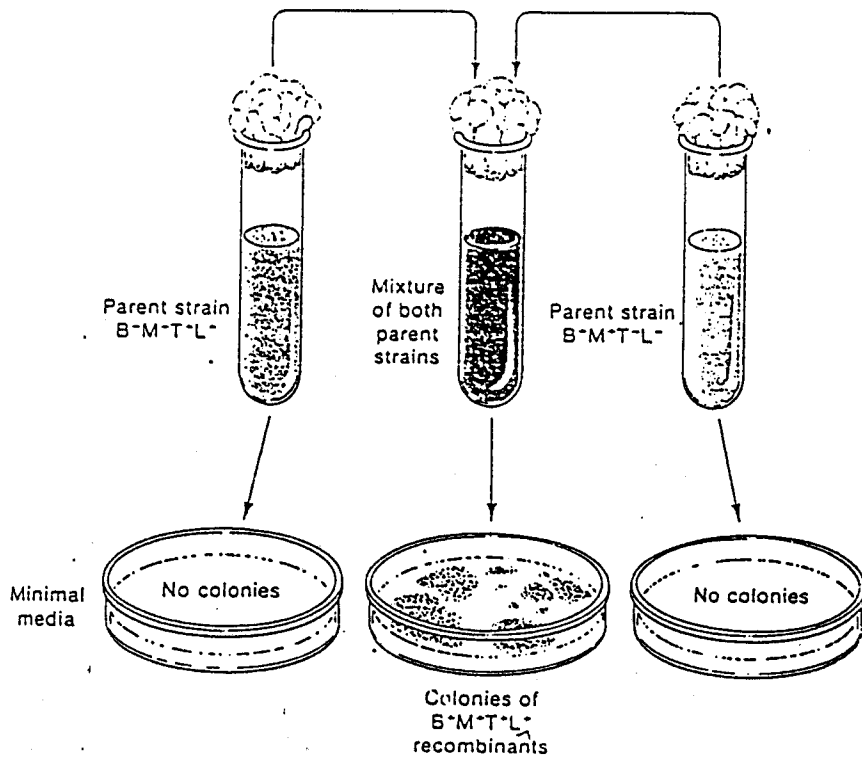


Gambar 25: Eksperimen Friffith. Eksperimen ini membuka jalan untuk memahami proses transformasi pada bakteri (Wistreich, 1998:305).

b. Konjugasi pada Bakteri

Konjugasi adalah transfer materi genetik antara dua bakteri melalui kontak fisik. Peristiwa konjugasi pertama kali ditunjukkan oleh Lederberg dan Tatum (1946). Mereka menggabungkan dua mutan *E coli*. Organisme yang pertama

memiliki potongan DNA ekstra yang dikenal dengan faktor F (fertility factor), DNA ini bukan merupakan DNA kromosom (DNA ekstra kromosomal).

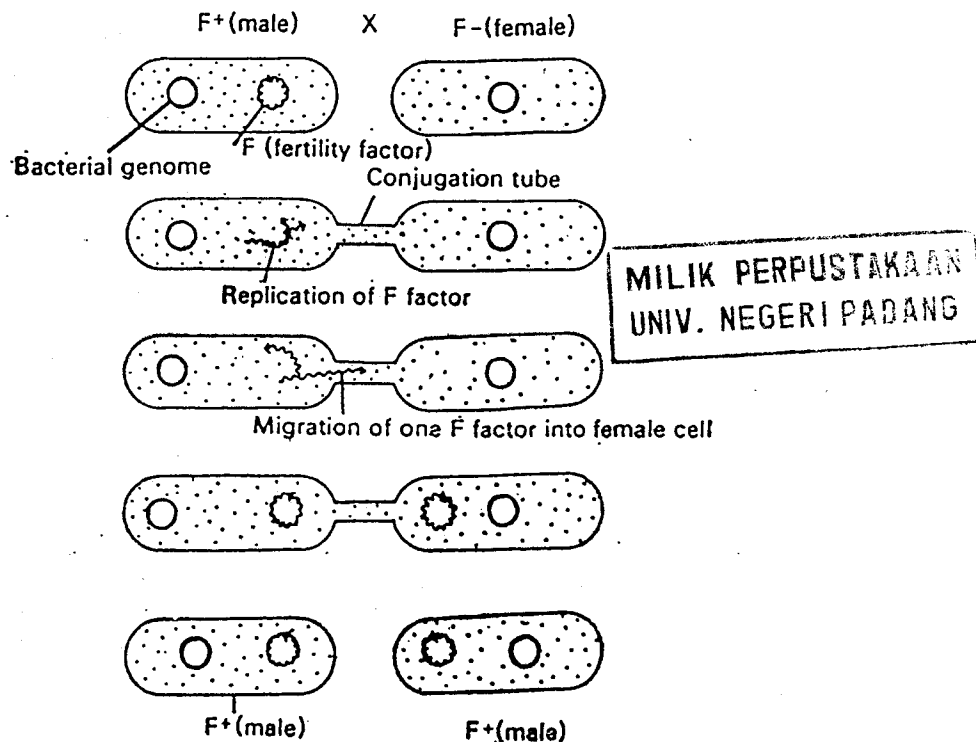


Gambar 26: Percobaan Tatum dan Lederberg tentang konjugasi bakteri Parental strain kiri dan kanan tidak bisa tumbuh di medium minimal, dan campuran kedua strain bisa tumbuh (Wistreich, 1984:307).

Bila bakteri F⁺ digabung dengan bakteri F⁻ maka F⁺ akan mengikat F⁻ dengan pili seks, dalam beberapa menit faktor F akan ditransfer sehingga F⁻ menjadi F⁺ setelah konjugasi. Sedangkan DNA kromosom tidak ditransfer, jadi rekombinasi tidak terjadi.

Faktor F merupakan DNA ekstra kromosomal yang berbentuk sirkuler yang penting artinya bagi bakteri sebagai: 1) pensintesis pili seks, 2) memacu terjadinya konjugasi, 3) menciptakan permukaan yang bermuatan listrik sehingga

kontak dengan resipien menjadi lebih mudah. Faktor F bisa melakukan replikasi sendiri tidak tergantung pada replikasi DNA kromosomal. Pemindahan faktor F pada waktu konjugasi hampir seratus persen, namun pembentukan rekombinasi pada persilangan F^+ dengan F^- ini sangat jarang terjadi. Mekanisme konyugasi antara F^+ dengan F^- dapat dilihat pada gambar 27.

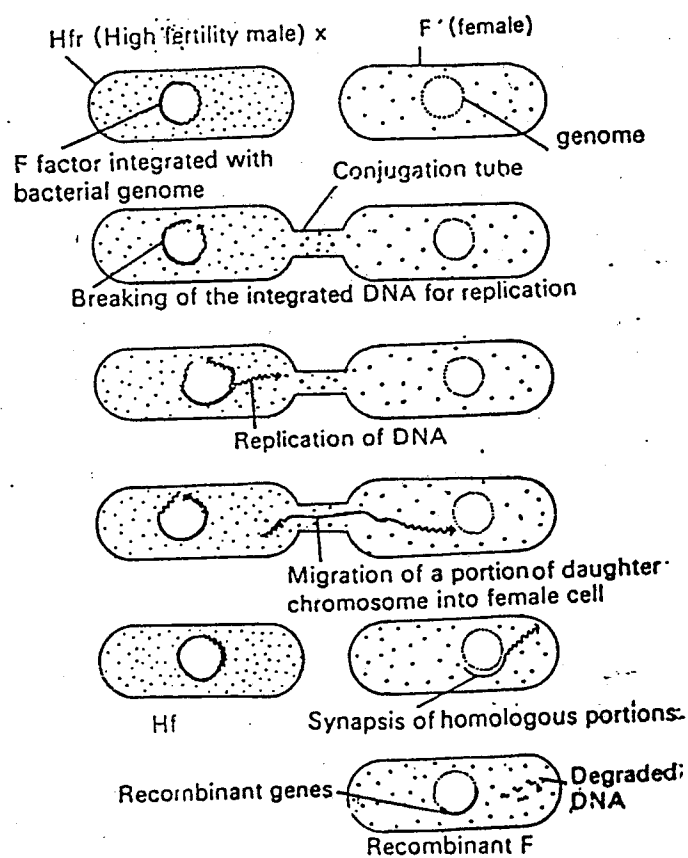


Gambar 27: Mekanisme konyugasi bakteri F^+ dengan F^- (Dube, 1979: 190)

2) Hfr

Pada bakteri-bakteri F^+ tertentu, kemampuan rekombinasi seksual dengan F^- 1000 kali lebih besar dari pada persilangan $F^+ \times F^-$. Bakteri donor (F^+) ini diberi nama galur rekombinasi berfrekwensi tinggi (high frequency

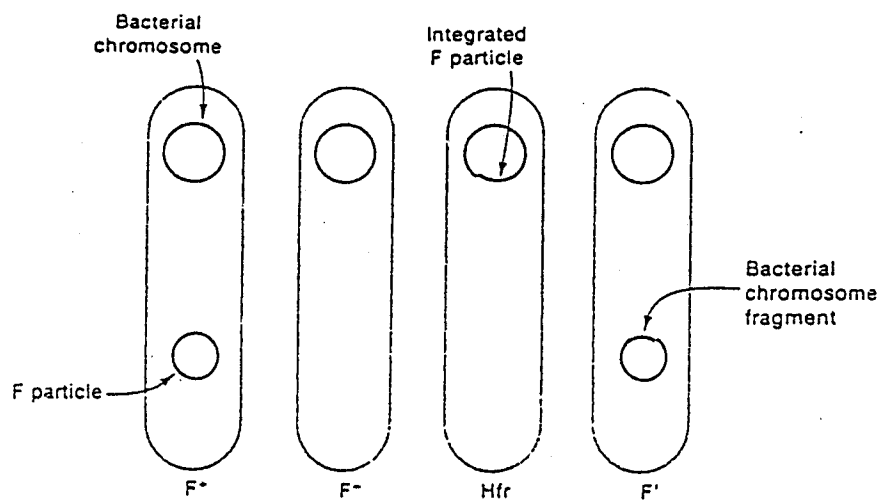
recombination atau Hfr). Sel HFr muncul dari sel F^+ dimana faktor F nya bergabung dengan DNA kromosom. Akibat penggabungan ini bila Hfr berkonjugasi dengan F^- maka kemungkinan DNA kromosom terbawa lebih banyak. Karena itu dalam kasus ini kemungkinan terjadinya rekombinasi genetik besar sedangkan perpindahan faktor F kecil. Hal ini terjadi karena faktor F berada paling akhir dari DNA yang harus dipindahkan pada waktu konjugasi. Untuk memahami bagaimana mekanisme konjugasi antara bakteri HFr dengan F^- dapat dilihat pada gambar 28.



Gambar 28: Mekanisme konjugasi antara bakteri HFr dengan bakteri F^- (Dube, 1979: 191)

3) F' partikel

Sel Hfr kadang-kadang bisa kembali menjadi F⁺ dengan bebasnya faktor F dari DNA kromosom. Pada waktu faktor F lepas, sebagian dari DNA kromosom ikut terbawa, maka faktor F yang seperti itu disebut F' partikel. Sel yang mengandung F' partikel disebut sel F' primer. Bila sel F' primer berkonjugasi dengan F⁻, maka faktor F (seks faktor) akan dipindahkan bersama-sama dengan DNA kromosom yang terbawa sehingga terbentuk sel F' sekunder. Proses terjadinya perpindahan (transfer) gen kromosomal bersama-sama dengan faktor seks disebut dengan seksduksi. Bagaimana struktur bakteri F⁺, F⁻, F' dan Hfr dapat dilihat pada gambar 29.



Gambar 29: Struktur bakteri F⁺, F⁻, F' dan Hfr. Gambar ini memperlihatkan hubungan DNA kromosom dengan faktor F (Wistreich, 1980:308)

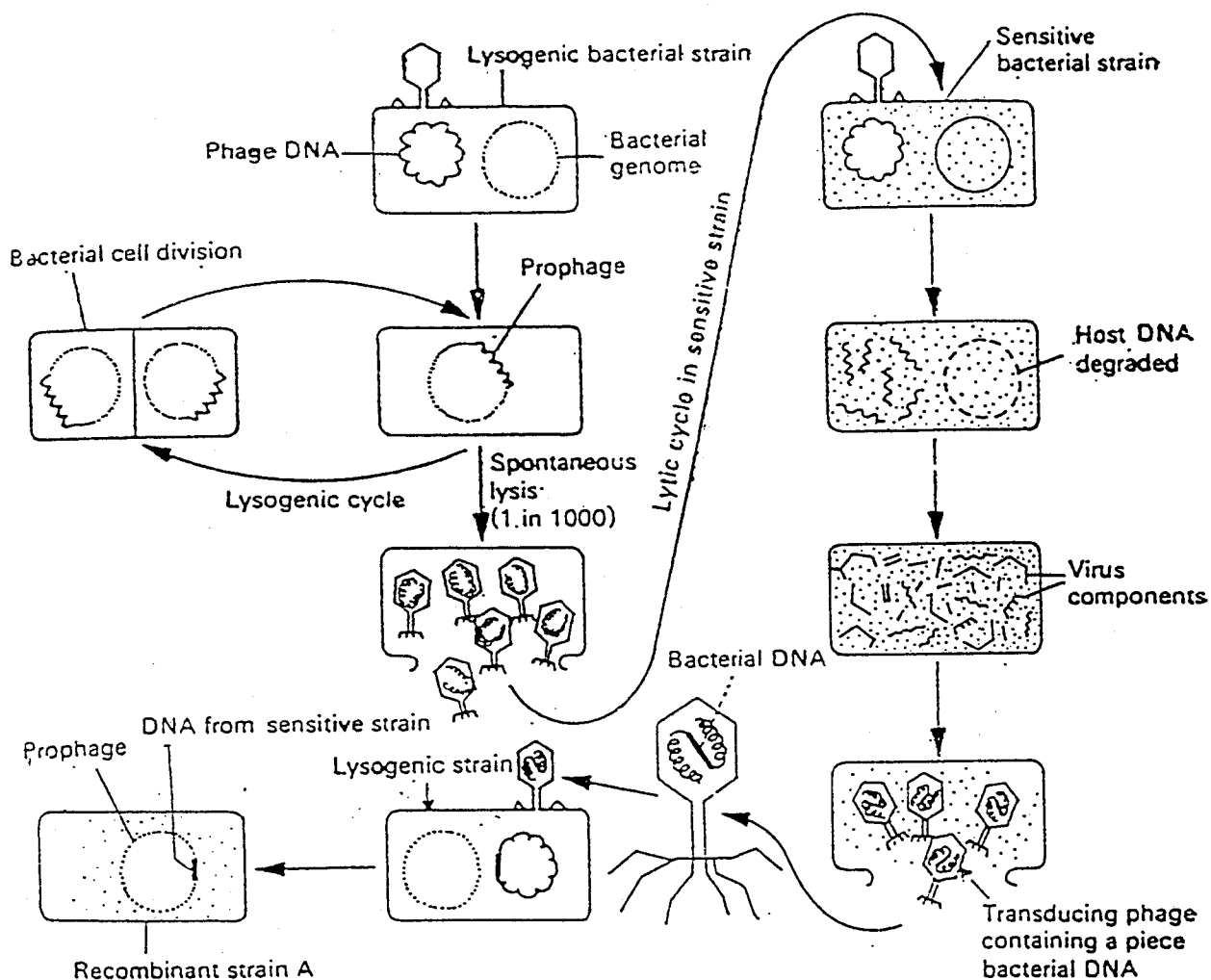
d. Transduksi

Transduksi merupakan proses pemindahan gen dari satu bakteri ke bakteri lain oleh bakteriofag. Proses transduksi pertama kali diteliti Zindir dan Lederberg

(1952) yang melaporkan terjadi pemindahan materi genetik (DNA) bakteri oleh agen yang lolos penyaringan (filter) bakteri. Agen ini kemudian diketahui sebagai virus bakteri (bakteriofage).

Bakteriofag yang bisa melakukan transduksi adalah bakteriofage tenang (temperate), dimana virus ini tidak melisis sel bakteri yang dimasukinya. Pada waktu bakteriofag menginfeksi bakteri yang masuk ke dalam sel bakteri adalah DNA/RNANYa saja. DNA virus akan bergabung dengan DNA bakteri. Pada bakteriofage tenang, virus DNA ini tidak langsung membentuk protein-protein dan komponen virus yang lain, melainkan ikut proses yang dijalankan sel bakteri termasuk replikasi DNA. Bila DNA kromosom bakteri bereplikasi otomatis DNA virus akan tereplikasi karena dia bergabung dengan kromosom bakteri. Begitu terus sampai beberapa generasi. Pada saat virus memasuki fase litik, maka DNA virus akan memisahkan diri pada saat itu biasa saja sebagian DNA kromosom bakteri ikut terbawa oleh DNA virus. Bila virus baru ini menginfeksi bakteri lain, maka DNA virus yang telah membawa kromosom bakteri lain akan ikut masuk sehingga terjadi rekombinasi genetik.

Kemampuan bakteriofag untuk membawa potongan DNA dan memindahkannya kepada bakteri, sekarang dimanfaatkan orang dalam rekayasa genetik dan kloning gen. Untuk lebih memahami proses transduksi dapat dilihat gambar 30.



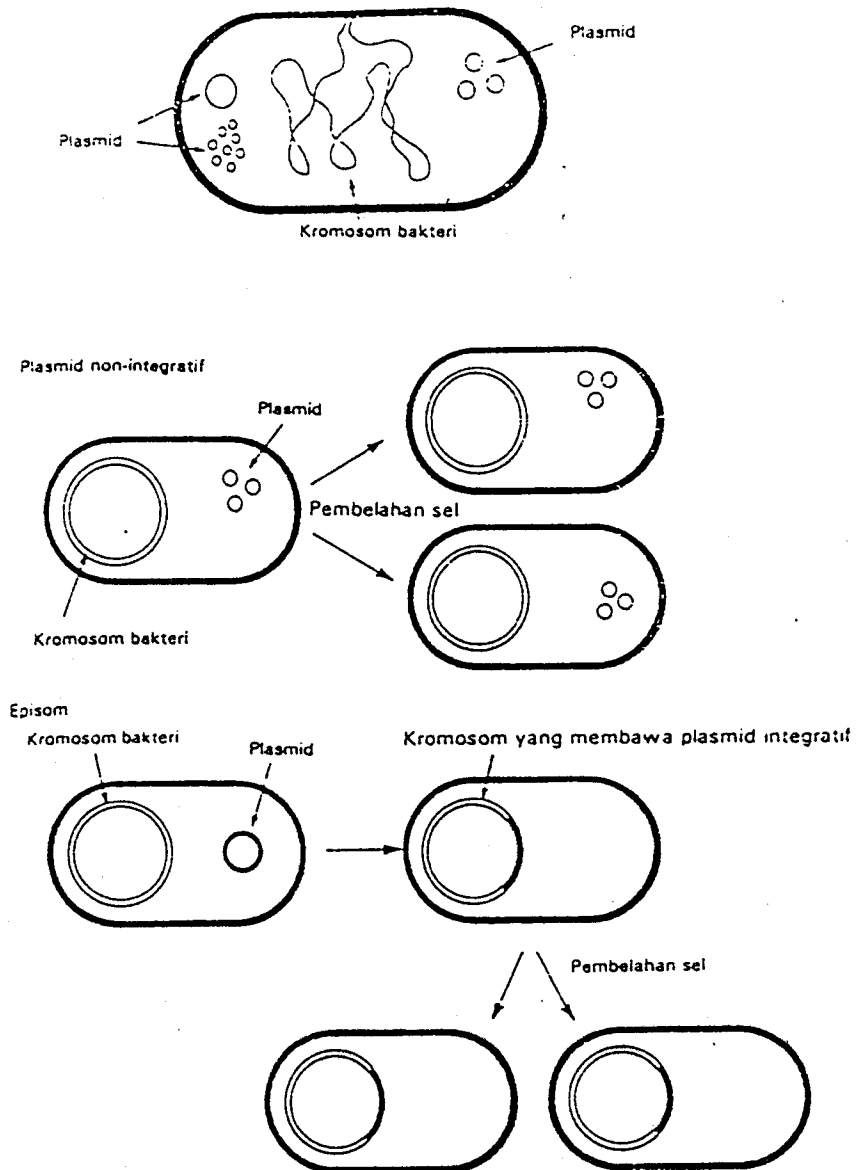
Gambar 30: Mekanisme terjadinya transduksi (Dube, 1979:194)

8. Plasmid

Plasmid merupakan gen (materi genetis) berbentuk sirkuler yang terletak di luar DNA kromosom bakteri. Plasmid bisa mereplikasi diri sendiri tanpa tergantung pada replikasi kromosom. Banyak sifat penting bakteri yang ditentukan oleh gen pada plasmid seperti sifat resisten terhadap anti biotika. Panjang DNA plasmid jauh

lebih pendek dari pada DNA kromosom. Plasmid mudah pindah ke bakteri lain melalui konjugasi.

Plasmid terbagi dua, ada plasmid yang bergabung dengan kromosom pada saat akan mengadakan replikasi. Plasmid ini disebut plasmid integratif (episom).

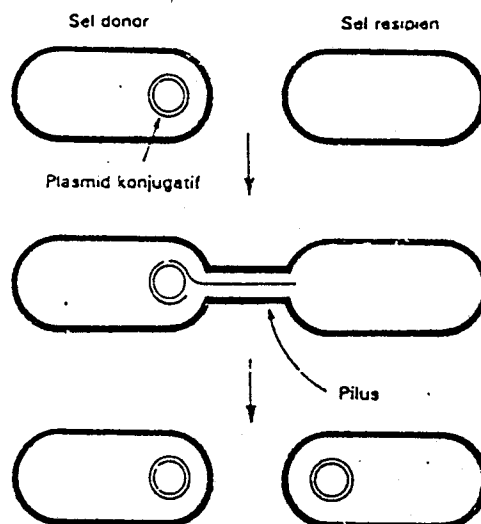


Gambar 31: Plasmid dalam sel bakteri dibandingkan dengan kromosom (a) beda episom dengan plasmid non integratif serta cara replikasinya (b) (Brown, 1991:12-13).

Plasmid lain yaitu plasmid non integratif, plasmid bebas yang bisa mereplikasi diri sendiri tanpa harus bergabung dengan kromosom. Bagaimana beda episom dengan plasmid non integratif dapat lebih jelas dimengerti pada gambar 31.

Dilihat dari kemampuan memacu konjugasi, ada dua macam plasmid yaitu, plasmid konjugatif dan non konjugatif. Plasmid konjugatif adalah plasmid yang dapat memacu konjugasi pada sel bakteri, plasmid konjugatif ini disebut juga fertility factor (faktor F). Sel yang memiliki plasmid F disebut sel F^+ (lihat keterangan sebelumnya pada konjugasi). Plasmid F di samping memacu terjadinya konjugasi juga memiliki *gen-tra* yang berfungsi mengatur transfer plasmid pada waktu konjugasi. *Gen-tra* ini tidak dimiliki oleh plasmid non konjugatif.

Dalam satu sel bisa ditemukan lebih dari satu plasmid. Masing-masing plasmid ini harus sesuai atau cocok (compatible). Bila tidak sesuai maka salah satu diantara plasmid ini akan hilang dari sel bakteri. Bagaimana transfer plasmid pada waktu konjugasi, lihat gambar 32.



Gambar 32: Transfer plasmid melalui konjugasi pada sel bakteri (Brown, 1991: 15)

Klasifikasi plasmid berdasarkan pada sifat utama yang dikode oleh gen plasmid. Ada 5 kelompok plasmid, yaitu:

a. Plasmid fertilitas atau plasmid F (F factor)

Plasmid F yaitu plasmid yang membawa gen-tra yang fungsinya untuk melakukan transfer plasmid melalui konjugasi.

b. Plasmid resistensi atau plasmid R

Plasmid R adalah plasmid yang membawa gen penyebab bakteri resisten terhadap antibiotik tertentu seperti kloramfenikol, ampisilin dan lain-lain.

Plasmid R yang terkenal adalah RP₄, yaitu plasmid resisten pada *Pseudomonas*.

c. Plasmid Col

Plasmid adalah plasmid yang mengkode senyawa antibakteri atau *bacteriosin*, bakteri yang punya plasmid col mampu menghasilkan bacteriosin, yaitu senyawa yang membunuh bakteri sejenis atau yang dekat hubungan kerabatnya.

Misalnya, plasmid col pada *E coli* membuat bakteri ini memproduksi *kolisin* suatu bakteriosin.

d. Plasmid degradatif (metabolic plasmid)

Adanya plasmid degradatif menyebabkan bakteri mampu melakukan jalur metabolik khusus yang tidak biasa.

Misalnya, *Pseudomonas* mampu merombak xylen, heksana, fenol, dan lain-lain karena bakteri ini punya plasmid degradatif.

e. Plasmid virulensi

Plasmid virulensi yaitu plasmid yang menyebabkan bakteri pembawanya bersifat patogen. Misalnya plasmid Ti pada *Agrobacterium tumefaciens* yang menimbulkan penyakit *crown gall* pada tanaman dikotil.

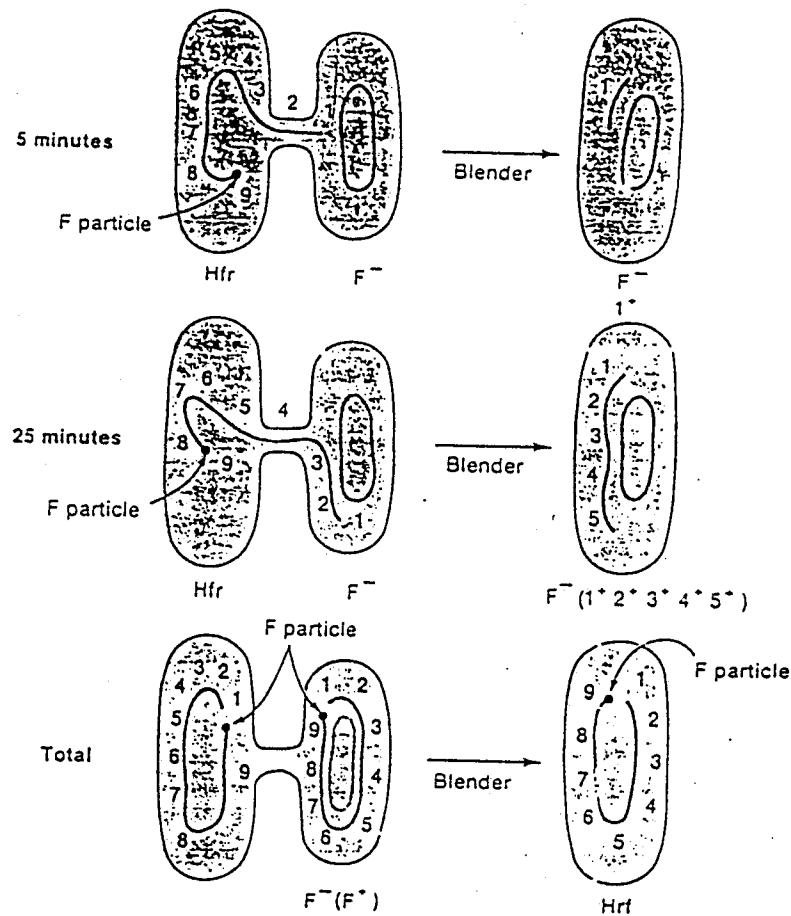
Potongan DNA plasmid kadang-kadang bisa pindah dari satu plasmid ke plasmid lain, potongan DNA itu disebut **transposon**.

9. Pemetaan Kromosom Bakteri

Teknik transformasi, transduksi dan konjugasi bisa digunakan untuk menentukan letak gen pada kromosom bakteri.

Percobaan konjugasi yang diganggu antara Hfr dan F⁻ bisa digunakan untuk pemetaan kromosom secara sederhana. Setiap gen Hfr memasuki F⁻ pada waktu tertentu. Dan masuknya gen ke F⁻ secara linear. Gen yang pertama kali masuk ke F⁻ berada pada titik inisiasi dan seterusnya. Penggangguan konjugasi bertujuan agar transfer gen terhenti, dan untuk mengetahui gen yang telah ditransfer dilakukan uji lanjut. Penggangguan konjugasi dilakukan pada waktu tertentu, misalnya tiap 10 menit. Bila transfer gen secara utuh terjadi dalam waktu 100 menit maka ada 9 kali gangguan yang perlu dilaksanakan sampai semua gen bisa dipetakan. Gangguan konjugasi biasanya berupa guncangan kuat (blender) sehingga konjugasi terhenti.

Untuk lebih jelas bagaimana mekanisme pemetaan kromosom bakteri dapat dilihat gambar 33.



Gambar 33: Teknik pemetaan kromosom bakteri melalui konjugasi terganggu (Wistreich, 1980:314)

D. Kesimpulan

Bakteri memiliki kromosom tunggal berbentuk sirkuler. Adanya materi genetik perlu untuk meneruskan informasi genetik kepada keturunannya.

Bakteri merupakan organisme sel tunggal dan sangat mudah dipengaruhi oleh lingkungan. Materi genetik bakteri mudah bermutasi dan mutasi itu dapat balik ke keadaan semula. Akibat dari mutasi terhadap bakteri liar (prototrof) akan terbentuk mutan (bakteri ausotrof) yang untuk dapat hidup memerlukan nutrisi khusus, karena bakteri ini kehilangan gen yang mengatur metabolisme pembentuk nutrisi tersebut.

Sifat bakteri yang mudah bermulasi bisa dimanfaatkan untuk mendeteksi sifat karsinogenik suatu bahan.

Kromosom bakteri bisa berekombinasi dengan kromosom bakteri lain melalui cara transformasi, transduksi dan konjugasi. Ketiga cara rekombinasi genetik ini bisa dipakai untuk pemetaan kromosom bakteri.

Selain kromosom bakteri memiliki DNA ekstrakromosomal yang disebut plasmid. Plasmid kadang-kadang mengandung gen yang menentukan sifat penting bakteri seperti resisten terhadap antibiotik dan lain-lain.

Kenyataan bahwa plasmid mudah pindah serta rantai DNAnyanya pendek, maka hal ini menarik perhatian ilmuwan dalam rekayasa genetik.

E. Evaluasi

1. Apa dasar yang dipakai Hershey dan Chase sehingga mereka menyatakan bahwa DNA merupakan materi genetik.
2. Jelaskan secara biokimia bagaimana asam nitrat dan sinar UV bisa menyebabkan mutasi.
3. Jelaskan apa maksud hipotesis yang menyatakan one-gen, one-enzym dan apa bedanya dengan one-gen, one protein.
4. Apa yang dimaksud dengan :
 - a. minimal medium
 - b. prototrof
 - c. Auksotrof
5. Jelaskan kembali prosedur kerja Lederberg dalam menemukan peristiwa mutasi alami pada mikroba
6. Bedakan antara: transformasi, konjugasi dan transduksi

7. Bandingkanlah :
 - a. transformasi dengan konjugasi
 - b. konfersi lisogenik dengan transduksi
8. Bagaimana memetakan kromosom bakteri dengan konjugasi
9. Apa yang dimaksud dengan plasmid, epison, bakteriosin dan plasmid metabolik.

DAFTAR BACAAN

- Alcamo, I.E. (1983). *Fundamentals of Microbiology*. Addison-Wesley Publishing Company Sydney
- Alexopoulos, C. J. and Mims C. W. (1979). *Introductory Mycology*. Jhon Wiley and Sons. New York.
- Brown A. T (ed) Soemiati Ahmad Muhammad dan Praseno (1991). *Pengantar Kloning Gen*. Yayasan Essentia Medica. Yogyakarta
- Cappucino, James G., and Natalie Sherman. (1987). *Microbiologi. A laboratory Manual*. The Benyamin/Cummings Publishing Company, Inc. California.
- Dube, C. H. (1979). *A Textbook of Fungi Bacteria and Viruses*. Vikas Publishing House PVT LTD, New Delhi.
- Fardiaz, Srikandi. (1993). *Analisis Mikrobiologi Pangan*. PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta.
- Pelczar, MJ dan Chan. ECS. (1988). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta
- Wistreich, George A. and Max D. Lechtman. (1980). *Microbiology*. Glecoe Publishing Co Inc. Encino California.
- Prescott, Lausing M., John P. Harley, and Donald A. Klien. (1993). *Microbiology*. Wm. C. Brown Communication Inc. Melbourne.
- Schlegel. Hans G. (1986). *General Microbiology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Seeley, Harry W., and Paul J. Van Demark. (1981). *General Microbiology*. Third Edition. W. H. Freeman and Company. San Francisco
- Snustad D. Peter, Simmons J. Michael, Jenkins B. John (1997), *Principles of Genetics*. John Wiley & Sons Inc, New York.
- Wainwright, M. (1992). *An Introduction to Fungal Biotechnology*. John Wiley and Sons. New York.