

BAB 8

ISOLASI, REPRODUKSI DAN PERTUMBUHAN BAKTERI

BAB 8

ISOLASI, REPRODUKSI DAN PERTUMBUHAN BAKTERI

Deskripsi Mata Kuliah :

Mata kuliah ini membahas tentang cara mengisolasi bakteri dan mengamati reproduksi serta pertumbuhan dari bakteri

Sub Pokok Bahasan :

- 8.1. Isolasi bakteri
- 8.2. Reproduksi bakteri
- 8.3. Pertumbuhan bakteri
- 8.4. Penghitungan jumlah mikroba

Bahan Bacaan :

No	Judul Buku	Pengarang	Penerbit/Edisi/Tahun
1	Basic Microbiology	Soesilo, B., dan Mei, S.	FK Unair Surabaya/2010
2	Biology of Microorganism	Madigan, M.T., & John M. Martinko	USA/eleventh edition/2006
3	Cowan's and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria	Barrow, G.I. and Feltham, R.K.A.	UK:Cambridge University Press/third Edition/1993
4	Dasar-dasar Mikrobiologi	Pelczar, MJ dan E.C.S. Chan	Djambatan Jakarta/2010

5	Diagnostic Microbiology	Bailey, W.R, and Scott, E.G.	The C.V. Mosby Company/2 th edition/1996
6	Manual of Clinical Microbiology	Blair, J.E., Lenette, E.H., and Truant, J.P.	The Williams & Wilkins, Baltimore/1970
7	Microbiology	Presscott,L.M., John, P.H., Donald, A.K.	Mc Graw-Hill Company New York/ 5 th edition/2002
8	Mikrobiologi Kedokteran	Jawetz, E. Melnick J.L and Adelberg, E.A.	EGC Jakarta/ Edisi terjemahan Indonesia/2004
9	Teknik dan Metode Dasar Mikrobiologi	Waluyo Lud	UMM Press. Malang/2010
10	Mikrobiologi Dasar, Jilid 1	Volk dan Wheeler	Erlangga Jakarta/Edisi kelima/1993
11	Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum untuk Perguruan Tinggi	Jutono, J.	Dep. Mikrobiologi Fak. Pertanian UGM Yogyakarta/1980
12	Mikrobiologi dasar	Soetejo, M.M., Kartasaputra, Sastroadmojo	Reika Cipta Jakarta/1991
13	Isolasi Mikroorganisme	Pradhika, E.I.	Ekmon-saurus.co.id/2008/diakse s 2015

8.1. Isolasi Bakteri

Bakteri mudah ditemukan di air, udara dan tanah. Mereka hidup berkoloni, baik bersimbiosis, bebas ataupun parasit pada makhluk hidup. Jumlah bakteri di alam sangat melimpah dengan keanekaragaman yang tinggi. Untuk mempelajari kehidupan dan keragaman bakteri, diperlukan suatu usaha untuk mengembang biakkan bakteri tersebut dalam skala laboratorium. Pengembangan biakan ini dilakukan dengan menumbuhkan bakteri dari sumber isolat, seperti tanah, udara, sisa makanan, cairan tubuh dan lain-lain, dalam media yang mengandung nutrisi.

Media pertumbuhan bakteri sangat beragam, mulai dari media selektif, media pengkaya, media differential dan lain sebagainya. Masing-masing media mempunyai fungsi berbeda dan digunakan tergantung tujuan. Dalam mempelajari sifat pertumbuhan dari masing-masing jenis mikroorganisme, maka mikroorganisme tersebut harus dipisahkan satu dengan yang lainnya, sehingga didapatkan kultur murni yang disebut **isolat**. Kultur murni merupakan suatu biakan yang terdiri dari sel-sel yang berasal dari satu spesies atau satu galur mikroorganisme. Kultur murni diperoleh dengan cara isolasi menggunakan metode tuang ataupun gores. Supaya hasil biakan baik, maka kultur harus dilakukan secara aseptik, berupa jenis bakterinya, dan isolasi jenis-jenis bakteri tertentu.

Isolasi suatu mikroba adalah memisahkan mikroba tersebut dari lingkungannya dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam medium buatan. Dalam isolasi harus diketahui cara-cara menanam dan menumbuhkan mikroba pada media buatan serta syarat-syarat lain yang harus

dipenuhi untuk pertumbuhannya. Hasil isolasi tergantung dari penipisan bahan pemeriksaan pada perbenihan padat dan pemindahan biakan murni pada perbenihan baru.

Memindahkan bakteri dari medium lama ke medium baru diperlukan ketelitian dan pensterilan alat-alat yang digunakan, supaya dapat dihindari terjadinya kontaminasi. Pada pemindahan bakteri di cawan petri yang berisi agar baru, maka cawan petri tersebut harus dibalik, hal ini berfungsi untuk menghindari adanya tetesan air yang mungkin melekat pada dinding tutup cawan petri. Pertumbuhan mikroba dapat dilakukan dalam medium padat, karena dalam medium padat sel-sel mikroba akan terbentuk suatu koloni sel yang tetap pada tempatnya.

A. Beberapa teknik isolasi mikroba, yaitu :

1. Teknik penanaman dari suspensi

Teknik penanaman ini merupakan lanjutan dari pengenceran bertingkat (teknik pengenceran bertingkat dapat dilihat pada Lampiran 8). Pengambilan suspensi bakteri dapat diambil dari pengenceran mana saja, tetapi biasanya untuk tujuan isolasi (mendapatkan koloni tunggal) diambil beberapa tabung dari pengenceran terakhir. Pada teknik penanaman dari suspensi ada beberapa cara, yaitu :

(1) *Spread plate* (teknik tabur ulas pada media *agarplate*)

Spread plate merupakan teknik menanam dengan menyebarkan suspensi bakteri di

permukaan agar *plate*, untuk memperoleh kultur murni (*pure culture*). Prosedur kerjanya sebagai berikut :

- a. Suspensi cairan bakteri diambil sebanyak 0,1 mL dengan mikropipet, kemudian ditetaskan dipermukaan media agar *plate* yang telah memadat
- b. Triglaski kemudian dibakar di atas Bunsen dan didinginkan beberapa detik
- c. Suspensi diratakan dengan menggosokkannya permukaan media agar *plate*. Penyebaran akan lebih efektif bila cawan petri ikut diputar.
- d. Diinkubasi

(2) *Pour plate* (agar tuang)

Teknik ini memerlukan media agar yang belum padat dan dituang bersama suspensi bakteri ke dalam cawan petri dan dihomogenkan, kemudian dibiarkan memadat. Hal ini akan menyebabkan sel-sel bakteri tidak hanya terdapat pada permukaan media agar saja, tetapi juga di dalam atau bahkan di dasar media agar, sehingga bisa diketahui sel yang dapat tumbuh di permukaan media agar yang kaya oksigen (O_2) dan di dalam media agar yang tidak begitu banyak oksigen (O_2).

Prosedur kerjanya sebagai berikut :

- a. Menyiapkan cawan petri steril, tabung yang berisi suspensi yang telah diencerkan yang akan ditanam dan media agar yang masih cair dengan suhu berkisar antara 50⁰-55⁰ C
- b. 1 mL suspensi bakteri diteteskan secara aseptis kedalam cawan petri steril yang masih kosong
- c. Media agar yang masih cair dituang ke dalam cawan petri
- d. kemudian cawan petri diputar-putar membentuk angka delapan (8) atau angka satu (1) supaya suspensi bakteri dan media agar homogen
- e. Diinkubasi

Catatan :

Pada *spread plate*, suspensi bakteri diteteskan sebanyak 0,1 mL dan pada *pour plate* diteteskan sebanyak 1 mL, hal ini karena *spread plate* bertujuan untuk menumbuhkan dipermukaannya saja, sedangkan *pour plate* membutuhkan ruang yang lebih luas untuk penyebarannya sehingga volume suspensi bakteri diberikan lebih banyak daripada *spread plate*.

2. Teknik Penanaman dengan Goresan (*Streak*)

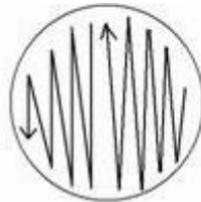
Bertujuan untuk mengisolasi mikroorganisme dari campurannya atau meremajakan kultur ke dalam media baru. Ada beberapa teknik penggoresan (*streak*), yaitu :

(1) Goresan Sinambung

Prosedur kerjanya adalah :

- a. Inokulum loop (ose) disentuhkan pada koloni bakteri dan di gores secara kontinyu sampai setengah permukaan agar
- b. Kemudian cawan petri diputar 180⁰ dan dilanjutkan goresan sampai habis.

Goresan sinambung umumnya digunakan bukan untuk mendapatkan koloni tunggal, melainkan untuk peremajaan ke cawan petri yang berisi media baru.

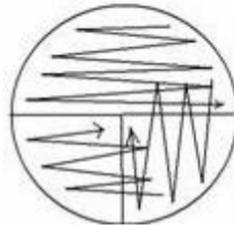


Gambar 8.1 Goresan sinambung

(2) Goresan T

Prosedur kerjanya :

- a. Di bagian bawah luar Cawan petri yang telah berisi media agar dibagi menjadi 3 bagian menggunakan spidol. Daerah tersebut nantinya akan diinokulasi dengan goresan (*streak*) zig zag
- b. Ose dipanaskan sampai membara dan kemudian didinginkan
- c. Diambil koloni bakteri / suspensi bakteri dengan menggunakan ose, kemudian di *streak* zig zag pada daerah 1 sebagai goresan pertama
- d. Kemudian goresan selanjutnya dipotongkan atau disilangkan dari goresan pertama
- e. Diinkubasi

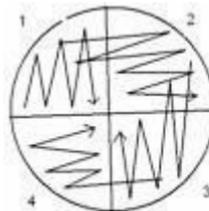


Gambar 8.2 Goresan T

(3) Goresan Kuadran (*Streak quadrant*)

Prosedur kerjanya :

- a. Hampir sama dengan goresan T, tetapi pada teknik ini cawan petri dibagi menjadi 4 bagian.
- b. Daerah 1 merupakan bagian awal, sehingga masih mengandung banyak sel mikroba.
- c. Goresan selanjutnya dipotongkan atau disilangkan dari goresan pertama sehingga jumlah bakteri semakin sedikit dan akhirnya terpisah-pisah menjadi koloni tunggal.
- d. Diinkubasi



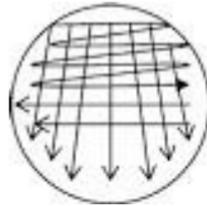
Gambar 8.3 Goresan kuadran

(4) Goresan Radian

Prosedur kerjanya :

- a. Diambil koloni bakteri atau suspensi bakteri dengan menggunakan ose

- b. Goresan dimulai dari bagian tepi lempengan agar sampai seluruh permukaan media agar
- c. Kemudian putar cawan petri 90° dan dibuat goresan di atas goresan sebelumnya



Gambar 8.4 Goresan radian

- B. Hal-hal yang perlu diperhatikan dalam mengisolasi bakteri, yaitu :
1. Sifat-sifat spesies mikroba yang akan diisolasi
 2. Tempat hidup atau asal mikroba tersebut
 3. Media untuk pertumbuhannya sesuai
 4. Cara menanam mikroba tersebut
 5. Cara menguji bahwa mikroba yang telah diisolasi berupa biakan murni dan sesuai dengan yang dimaksud
 6. Cara memelihara mikroba supaya mikroba yang telah diisolasi tetap merupakan biakan murni

Medium agar merupakan substrat yang sangat baik untuk memisahkan campuran mikroorganisme. Teknik yang digunakan memungkinkan bakteri tumbuh pada jarak yang berjauhan dari sesamanya dan membentuk koloni. Semua sel dalam koloni dianggap sebagai turunan atau progeny suatu mikroorganisme yang disebut dengan biakan murni. Bahan yang diinkubasikan pada medium disebut inokulum. Dengan cara inokulasi bakteri pada media agar yang tepat, maka sel-sel bakteri akan terpisah sendiri-sendiri. Setelah diinkubasi, bakteri akan memperbanyak diri dengan cepat selama 18-24 jam, sehingga terbentuk massa sel (koloni) yang dapat terlihat dengan mata telanjang.

Untuk memastikan mikroba yang diisolasi telah berupa biakan murni dan sesuai dengan yang dimaksud, maka perlu pengujian. Uji awal yang bisa digunakan adalah dengan cara pengecatan Gram. Apabila bakteri tidak berubah secara morfologi dan hanya dalam 1 bentuk morfologi dan sifat terhadap pewarnaan Gram yang sama, maka bakteri yang diisolasi sudah merupakan biakan murni dan apabila di dalam uji pengecatan Gram berubah baik morfologi ataupun sifatnya terhadap pewarnaan Gram, maka isolasi tidak berhasil karena belum berubah menjadi biakan murni, tetapi masih dalam bentuk biakan campuran. Hal ini mungkin bisa disebabkan karena adanya kontaminasi di dalam isolasi bakteri.

8.2. Reproduksi Bakteri

Definisi : meningkatnya jumlah sel bakteri.

A. Reproduksi aseksual (vegetatif)

1. Pembelahan : umumnya *binary fission* (pembelahan biner). Pembelahan biner adalah setiap baktei membentuk dinding sel baru melintang diemeter pendeknya lalu membelah menjadi dua, empat, enam, dan seterusnya. Pembelahan ini terjadi secara amitosis (secara langsung), yaitu tidak melalui tahap-tahap tertentu seperti pada pembelahan mitosis. Umumnya bakteri mampu membelah sekitar 1-3 jam sekali. Sebagai contohnya, *Escherechia coli* yang membelah dalam setiap 20 menit sekali. Dalam waktu yang relatif singkat, jumlah sel dalam koloni akan terus berlipat ganda dari sautu generai ke generasi yang berikutnya. Tetapi, pada pertumbuhan koloni bakteri akan melambat pada suatu titik tertentu, yaitu ketika kehabisan nutrisi atau terjadi penumpukan sisa metabolisme yang meracuni bakteri tersebut.

2. *Budding*(tunas) dan *branching* (cabang)

- a. *budding* : tunas → lepas → sel baru
- b. *branching* : tunas → cabang → lepas → sel baru

contoh : *Corynebacterium diphtheriae*, *Mycobacterium tuberculosis*

3. pembentukan filament : serabut panjang → kromosom masuk → filamen putus-putus → sel-sel baru → keadaan tidak normal

contoh : *Haemophilus influenza* pada biakan basah

B. Reproduksi seksual (generatif) :

Bakteri melakukan reproduksi secara seksual dengan cara rekombinan gen. rekombinan gen adalah peristiwa bercampurnya materi gen (DNA) dari dua sel bakteri yang berbeda, maka dapat terbentuk DNA rekombinan. Rekombinasi gen dapat terjadi dengan melalui konjugasi, transduksi dan transformasi. Pembelahan didahului dengan peleburan kromosom sehingga terbentuk sel baru dengan sifat kedua sel induknya. Hanya terjadi dalam satu famili, misal :

- *Escherichia coli* dengan *Shigella dysenteriae*
- *Escherichia coli* dengan *Salmonella typhosa*

Reproduksi bakteri seperti deret ukur. Dari satu sel bakteri dapat dihasilkan beribu-ribu sel anak baru dalam satu populasi/kelompok. Dalam meninjau pertumbuhan mikroorganisme harus dibedakan antara pertumbuhan masing-masing sel, pertumbuhan kelompok di atas permukaan medium padat dan pertumbuhan sel-sel dalam medium cair.

Waktu yang diperlukan untuk pembelahan diri dari 1 sel menjadi 2 sel sempurna disebut sebagai waktu generasi (*generation time*). Waktu generasi tidak selalu

tetap, tetapi tergantung faktor-faktor dalam medium, spesies dan umur bakteri.

8.3. Pertumbuhan Bakteri

Definisi : penambahan secara teratur semua komponen sel suatu jasad dan meningkatnya jumlah sel konstituen

Pengukuran :

- (1) Konsentrasi sel (*cell concentration*) : jumlah sel / volume biakan dibaca dengan foto elektrik atau penentuan nitrogen
- (2) Kepadatan sel (*cell density*) : berat kering sel / volume biakan kemudian menghitung jumlah sel hidup menggunakan foto elektrik

Kecepatan pertumbuhan : generation per hour / generasi
tiap jam

Generasi : jumlah sel menjadi 2 kali lipat

$$N = N_0 \times 2^g \rightarrow g = \frac{\log N - \log N_0}{\log 2}$$

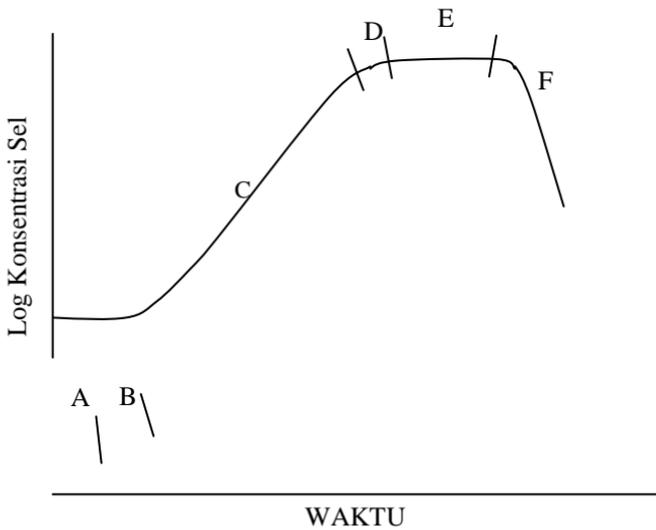
N_0 : jumlah sel semula

N : jumlah sel sekarang

g : generasi

A. Kurva Pertumbuhan bakteri

- Bakteri dibiakkan pada perbenihan cair
 - sel membengkak
 - berkembang biak → jumlah sel meningkat → keruh
 - pertumbuhan menetap → menurun
- Jumlah sel dari waktu ke waktu → kurva



Gambar 8.5 Kurva pertumbuhan bakteri

Tabel 8.1 Fase pertumbuhan bakteri

Garis	Fase	Kecepatan pertumbuhan
A	Lag / penyesuaian	Nol
B	Akselerasi / percepatan	Meningkat
C	Eksponensial/ logaritmik	Konstan
D	Retardasi / perlambatan	Menurun
E	Satsioner maksimum	Nol
F	Deklinasi / kemunduran	Negatif

1. Fase lag / penyesuaian diri : 2 jam
 - belum berkembang biak
 - tidak ada pembelahan
 - ukuran sel membesar
 - kegiatan metabolisme sangat tinggi
 - penyesuaian terhadap lingkungan baru
 - pembentukan enzim-enzim dan metabolit yang diperlukan untuk berkembang biak
 - lamanya tergantung :
 - jenis bakteri

- jenis perbenihan : baik → pendek
 - fase waktu dipindahkan
 - jumlah bakteri yang dibiakkan
 - faktor lingkungan (misalnya suhu)
 - lebih lama : bakteriostatik, udara berlebih/meningkat
2. fase akselerasi / percepatan : mulai membelah, makin lama makin cepat
3. fase eksponensial / logaritmik : 18-24 jam
- jumlah sel meningkat secara logaritmik → garis lurus
 - kegiatan metabolisme tinggi
 - lebih peka terhadap antibiotika
 - dipengaruhi faktor-faktor :
 - sifat-sifat bakteri
 - kecepatan masuknya zat gizi ke dalam sel
 - suhu
 - pertengahan fase :
 - pertumbuhan ideal
 - pembelahan teratur
 - semua bahan dalam sel seimbang

4. fase retardasi / perlambatan : jumlah sel menurun
5. fase stasioner maksimum / menetap
 - jumlah sel baru = jumlah sel mati, karena :
 - makanan berkurang
 - racun menumpuk
 - gangguan keseimbangan ion, misalnya Ph
 - nutrisi pembatas pada bakteri aetrob
 - 10^7 sel / ml : pertumbuhan menurun bila tidak diberi udara banyak
 - $4-5 \times 10^9$ sel / ml : kecepatan difusi O_2 maksimal → kecepatan pertumbuhan menurun
6. fase deklinasi / kemunduran : beberapa hari sampai bulan
 - bakteri mati progresif , karena :
 - makanan habis
 - racun menumpuk
 - enzim otolitik
 - sering timbul bentuk involusi

Sel bakteri dapat dipertahankan dalam fase logaritma dengan terus menerus memindahkannya ke dalam medium segar yang mengandung susunan / komposisi yang sama. Pertumbuhan *continue* : pertumbuhan mikroorganisme pada suatu medium yang

selalu pada fase logaritma. Alat yang digunakan untuk mengukur pertumbuhan *continue* adalah **kemostat** dan **turbidostat**.

8.4. Penghitungan Jumlah Mikroba

Jumlah mikroorganisme pada suatu bahan dapat ditentukan dengan bermacam-macam cara, tergantung pada bahan dan jenis mikroorganisme yang ditentukan.

Ada 2 cara menghitung jumlah mikroorganisme :

1. Perhitungan secara langsung (*Direct Methode*)

Cara ini dipakai untuk menentukan jumlah mikroba secara keseluruhan (yang mati + yang hidup).

Ada beberapa cara, yaitu :

1) Menggunakan kamar hitung (*counting chamber*)

Dengan menggunakan hemositometer, *peteroff hauser bacteria counter* atau alat-alat sejenisnya.

Caranya :

- a. Menempatkan 1 tetes suspensi bahan pada alat tersebut di atas → di tutup dengan *cover glass* → diamati dengan mikroskop.
- b. Dengan menentukan jumlah rata-rata tiap petak yang telah diketahui volumenya, dapat ditentukan jumlah sel mikroorganisme tiap mL.

- 2) Menggunakan cara pengecatan dan pengamatan mikroskopik

Caranya :

- a. Dibuat preparat mikroskopik dari suspensi bahan yang telah diketahui volumenya → preparat di cat → di keringkan di udara → dihitung jumlah rata-rata sel mikroorganisme tiap bidang.
- b. Jumlah mikroorganisme yang terdapat pada suspensi tersebut dapat dihitung, sehingga diperoleh jumlah mikroorganisme tiap mL bahan/cairan yang diperiksa.

- 3) Menggunakan filter membran

Caranya :

- a. Mula-mula disaring sejumlah volume tertentu suatu suspensi bahan/biakan mikroba → saring dengan filter membran yang steril.
- b. Dengan menghitung jumlah rata-rata tiap satuan luas pada filter membran, sehingga jumlah sel suspensi dapat di hitung. Bila penghitungan sulit, perlu dilakukan pengecatan pada filter membran.
- c. Kemudian filter membran diliputi oleh oil imersi supaya tampak transparan.

2. Perhitungan secara tidak langsung (*Indirect Method*)

Cara ini dapat untuk menghitung jumlah mikroorganisme keseluruhan, yaitu (1) yang hidup dan yang mati; (2) yang hidup saja. Untuk menentukan jumlah mikroba yang hidup, dapat dilakukan setelah suspensi bahan/biakan mikroorganisme diencerkan beberapa kali dan ditumbuhkan dalam medium dengan cara tertentu, tergantung macam bahan dan sifat mikroorganisme.

Ada beberapa cara yang digunakan untuk *indirect method* :

2.1. Menggunakan Centrifuge

10 mL biakan murni dicentrifuge dengan menggunakan centrifuge, kecepatan dan waktu diperhatikan. Setelah diketahui volume mikroorganisme seluruhnya, maka dapat dipakai untuk menentukan jumlah sel mikroorganisme tiap mL, yaitu : membagi volume mikroorganisme seluruhnya dengan volume rata-rata tiap sel mikroorganisme.

2.2. Berdasarkan Kekeruhan (Turbiditas)

Dasar : seberkas sinar dilewatkan pada suspensi mikroorganisme. Makin pekat (keruh) suspensi, makin besar intensitas sinar yang diabsorpsi, sinar yang diteruskan kecil.

Alat-alat : Fotoelektrik Turbidimeter,
Elektrofotometer, Spektrofotometer.

Alat-alat tersebut menggunakan sinar monokromatik dengan panjang gelombang (λ) tertentu. Dengan mengukur persentase sinar yang diabsorpsi/ yang diteruskan, kemudian dibandingkan dengan standart mikroorganisme yang telah diketahui tiap mL, sehingga dapat diketahui jumlah mikroorganisme tersebut tiap mL.

2.3. Elektronik Counter

Alat ini dipakai untuk menentukan beribu-ribu sel tiap detik secara tepat.

Prinsip :

Adanya gangguan pada aliran ion-ion (listrik) yang bergerak diantara 2 elektroda. Penyumbatan sementara oleh sel mikroorganisme pada pori menyebabkan terputusnya aliran listrik.

Jumlah pemutusan aliran tiap satuan waktu dihubungkan dengan kecepatan aliran cairan yang mengandung mikroorganisme, merupakan ukuran jumlah mikroorganisme dalam cairan.

2.4. Analisa kimia

Cara ini didasarkan atas hasil analisa kimia sel-sel mikroorganisme, makin banyak sel mikroorganisme, makin besar hasil analisa secara kuantitatif.

Yang dipakai untuk penentuan : kandungan protein, DNA/RNA, fosfor dari asam nukleat.

2.5. Berat Kering

Cara ini terutama digunakan untuk penentuan jumlah kapang dalam mikrobiologi industri. Kenaikan berat kering berarti kenaikan sintesa sel-sel yang dipakai untuk menentukan jumlah mikroorganisme.

2.6. Pengenceran

Dipakai untuk menentukan jumlah mikroorganisme yang hidup saja. Pengenceran sejumlah volume tertentu suatu suspensi mikroorganisme secara bertingkat setelah diinokulasikan ke medium dan diinkubasi. Kemudian dilihat pertumbuhan mikroorganisme. Contoh :

1 : 1000 dan 1 : 10000

Ada pertumbuhan tidak ada pertumbuhan

2.7. MPN (*Most Probable Number*)

Cara MPN kurang tepat, mengingat tidak semua mikroorganisme dapat tumbuh dalam suatu medium pada keadaan tertentu. Untuk itu pengenceran dibuat beberapa kali ulangan, hasilnya secara matematik dapat untuk menentukan kemungkinan jumlah mikroorganisme yang terdapat dalam suspensi bahan tersebut. Untuk menentukan jumlah mikroorganismen yang paling mungkin digunakan daftar MPN.

2.8. Jumlah Koloni

Cara ini paling umum digunakan untuk penghitungan jumlah mikroorganisme.

Dasarnya : membuat suatu seri pengenceran bahan dengan kelipatan 10, dari masing-masing pengenceran diambil 1 mL dan dibuat taburan dalam petridish (*pour plate metode*) dengan medium agar yang sesuai. Setelah diinkubasi dihitung jumlah koloni tiap petridish dari masing-masing pengenceran. Dari jumlah koloni tiap petridish dapat ditentukan jumlah mikroorganisme tiap mL bahan.

Misalnya : Pada pengenceran 1000 didapatkan 45 koloni bakteri, maka tiap mL/gram bahan mengandung $45 \times 1000 = 45.000$ bakteri.

Rangkuman :

Isolasi adalah cara kerja untuk mendapat biakan murni, pertama kali ditemukan oleh Robert Koch. Hasil dari isolasi tergantung dari penipisan bahan pemeriksaan pada perbenihan padat dan pemindahan biakan murni pada perbenihan baru. Ada 3 cara isolasi bakteri, yaitu *plating*, *pour plate* dan *dilution*.

Bakteri bereproduksi secara aseksual dan seksual. Reproduksi secara aseksual dengan cara pembelahan, *budding*, dan pembentukan filament. Reproduksi bakteri secara seksual didahului peleburan kromosom dari sel bakteri yang masih dalam satu famili, sehingga didapatkan sel baru dengan sifat kedua sel induk. Reproduksi bakteri secara seksual seperti deret ukur dari 1

sel bakteri dapat dihasilkan beribu-ribu sel anak baru dalam 1 populasi/kelompok.

Pertumbuhan bakteri merupakan penambahan secara teratur semua komponen sel suatu jasad dan meningkatnya jumlah sel konstituen. Pertumbuhan bakteri diukur berdasarkan konsentrasi sel (*cell concentration*) dan kepadatan sel (*cell density*).

Evaluasi :

1. Untuk mendapatkan hasil biakan bakteri yang baik, ada beberapa hal yang perlu diperhatikan, yaitu
2. Gambarkan dan beri keterangan 4 macam cara *streakplate* untuk isolasi bakteri!
3. Bagaimana cara bakteri bereproduksi secara seksual? Jelaskan!
4. Bagaimana cara bakteri bereproduksi secara aseksual? Jelaskan!
5. Bakteri yang diisolasi pada suatu media akan mengalami pertumbuhan. Bagaimanakah cara untuk mengukur pertumbuhan bakteri pada suatu media? Jelaskan!
6. Untuk mengukur pertumbuhan bakteri diperlukan perbenihan (media) cair. Mengapa demikian?
7. Gambarkan kurva pertumbuhan bakteri dan beri keterangan pada masing-masing fasenya!
8. Ada 2 cara untuk menghitung jumlah mikroorganisme, yaitu *direct method* dan *indirect method*. Sebutkan 3 cara menghitung jumlah mikroorganisme secara *direct method*!

9. Penghitungan jumlah mikroba dengan cara *Most Probable Number* (MPN) kurang tepat untuk digunakan. Mengapa demikian? Jelaskan!
10. Jelaskan bagaimana kita bisa mengetahui bahwa bakteri yang telah kita isolasi pada suatu media berkembang biak dan tumbuh!

