

BIOTEKNOLOGI MIKROBIA

LINK DOWNLOAD [69.50 KB]

BIOTEKNOLOGI MIKROBIA

Mikrobia adalah kelompok jasad hidup berukuran kecil dengan kisaran ukuran sel sekitar 0,1 - 10 μm , meskipun ada suatu bakteri berukuran raksasa sekitar 750 μm yaitu *Thiomargarita namibiensis*. Mikrobia berbeda dengan jasad tingkat tinggi karena suatu sel mikrobia adalah satu individu, sedangkan pada jasad tingkat tinggi (manusia, hewan, tumbuhan) satu individu terdiri atas banyak sekali sel. Mikroba dapat dikelompokkan menjadi tiga kelompok yaitu :

- 1) Prokaryot,
- 2) Eukaryot, dan
- 3) Archaea.

Mikroba telah banyak digunakan sebagai agensia hidup untuk menghasilkan berbagai macam produk yang dimanfaatkan oleh manusia seperti :

- 1) Pembatan alcohol
- 2) Pembuatan pupuk hayati dan
- 3) Sebagai pestisida hayati.

A. Prinsip Dasar Kultivasi Mikrobia

Secara umum mikroba dapat ditumbuhkan /dikultivasi dengan menggunakan medium padat (solid medium) atau medium cair (broth/liquid medium). Berdasarkan atas komposisinya, medium untuk pertumbuhan mikroba dibedakan atas dua macam, yaitu :

- 1) Medium lengkap, dan
- 2) Medium minimal.

Medium lengkap adalah suatu bahan organik atau anorganik yang dapat memenuhi semua kebutuhan mikrobia untuk pertumbuhan dan aktivitas metabolismenya sehingga mikrobia dapat tumbuh dengan optimum. Sebaliknya medium minimal adalah suatu bahan kimia (umumnya adalah bahan anorganik) dengan komposisi terbatas yang digunakan untuk pertumbuhan mikrobia pada aras dasar. Organik yang dimaksud disini dapat berupa bahan yang diperoleh dari hasil ekstraksi jasad hidup, misalnya ekstraksi khamir atau ekstraksi daging, sedangkan bahan anorganik berupa bahan-bahan kimia sintetik.

Pertumbuhan mikrobia dalam medium lengkap dapat mencapai aras maksimum dengan laju pertumbuhan yang tinggi karena semua kebutuhan nutrisinya tercukupi. Medium lengkap biasanya digunakan untuk produksi sel dalam jumlah banyak atau produksi metabolit yang memerlukan nutrisi lengkap. Sebaliknya, pertumbuhan, pertumbuhan mikrobia dalam medium minimal tidak dapat optimum dan lajunya juga tidak setinggi laju pertumbuhan dalam medium lengkap. Medium minimal lebih banyak digunakan dalam analisis fisiologi, misalnya tanpa asam amino atau nukleotida tertentu.

Kultivasi mikrobia dapat dilakukan dengan dua macam teknik yaitu :

- 1) Kultur batch (sekali panen) dan
- 2) Kultur kontinyu

Dalam kultur batch, mikroba ditumbuhkan dalam medium sampai mencapai fase pertumbuhan maksimal kemudian dipanen produknya (sel/biomasa atau produk metabolitnya). Untuk menghasilkan produk lagi harus dilakukan kultivasi dari awal karena teknik ini pemanenan produk hanya dapat dilakukan sekali. Sebaliknya, dalam teknik kultur kontinyu mikroba ditumbuhkan secara terus menerus pada fase paling optimum (eksponensial) sehingga pemanenan produk dapat dilakukan berulang-ulang tanpa harus mengulangi kultivasi dari awal.

a) Kultur Batch

Pertumbuhan mikrobia dalam kultura batch mempunyai pola yang spesifik yang disebut pola pertumbuhan sigmoid. Pada awal pertumbuhan mikrobia belum ada penambahan jumlah sel yang dapat dideteksi karena pada saat ini mikrobia sedang melakukan proses adaptasi, fase pertumbuhan awal semacam ini disebut fase pertumbuhan lag atau fase adaptasi. Lamanya pertumbuhan fase sangat tergantung pada banyak faktor, misalnya status fisiologis mikrobia, macam mikrobia, juga ditentukan oleh seberapa besar perbedaan antara kondisi pertumbuhanh sebelum mikrobia ditumbuhkan dalam medium baru dengan medium sebelumnya. Fase pertumbuhan dipercepat (accelerated growth phase) adalah pertumbuhan setelah melewati fase adaptasi, mikrobia kemudian mulai tumbuh secara bertahap. Fase ini biasanya hanya berlangsung singkat karena kemudian mikrobia akan masuk ke fase berikutnya dengan laju pertumbuhan yang sangat tinggi yang disebut dengan fase eksponensial (fase logaritmik), pada fase ini penambahan jumlah sel mikrobia berlangsung secara logaritmik. Selanjutnya, dengan semakin berkurangnya nutrien, maka pertumbuhan mulai melambat sehingga mikrobia mencapai fase pertumbuhan diperlambat (decelerating growth phase). Akhirnya, pertumbuhan

mikrobia mencapai puncaknya yaitu fase stasioner. Pada fase ini sebagian sel sudah mengalami kematian sehingga nisbah (ratio) antara sel yang hidup dengan yang mati seimbang dan oleh karena itu jumlah sel secara total tidak lagi meningkat.

b) Kultur Kontinyu

Teknik kultura kontinyu, dimana mikrobia ditumbuhkan secara terus menerus pada fase paling optimum untuk pertumbuhan yaitu fase eksponensial. Hal ini dapat dilakukan dengan cara memberikan nutrisi secara terus menerus sehingga mikrobia tidak pernah berkurang nutrisi. Dengan demikian mikrobia tidak pernah mencapai fase stasioner sehingga status fisiologinya selalu dalam keadaan optimum.

Pemberian nutrisi secara kontinyu dalam teknik kultivasi ini dapat dilakukan dengan dua macam cara yaitu :

- 1) Komostat (chemostat), dan
- 2) Turbidostat

Teknik komostat dilakukan dengan menambahkan nutrisi melalui suatu tanki sedemikian rupa sehingga komposisi nutrisi didalam fermentor tempat kultivasi mikrobia selalu dalam keadaan tetap. Sebaliknya dengan teknik turbidostat, dilakukan dengan menambahkan nutrisi secara kontinyu sehingga kerapatan sel (turbiditas kultur) selalu dalam keadaan tetap.

B. Kultura Padat dan Semi-Padat

Kultur batch dan kultur kontinyu adalah teknik kultivasi mikrobia dengan menggunakan medium cair. Mikrobia juga dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan produk tertentu dengan menggunakan media padat (solid media) atau media semi-padat (semi-solid media). Penggunaan media padat atau semi-padat hanya dilakukan untuk industri mikrobiologi yang berskala kecil jika dibandingkan dengan industri yang menggunakan medium cair. Contoh industri padat yang menggunakan mikrobia cair adalah seperti;

- 1) Tempe, (mediumnya adalah kedelai atau biji-bijian yang lain),
- 2) Tape (mediumnya adalah ketela pohon, ketan, atau bahan berkarbohidrat yang lain),
- 3) Jamur merang (mediumnya adalah sekam padi, jerami) dan lain-lain.

C. Pemanfaatan Mikrobia Dalam Industri Bioteknologi

Pemanfaatan mikrobia dalam industri bioteknologi meliputi beberapa produk, antara lain untuk menghasilkan:

- 1) Produk pangan yang dikonsumsi secara langsung,
- 2) Produksi bahan baku untuk pangan,
- 3) Produksi bahan untuk mendukung tahapan sebelum panen (pre-harvest materials),
- 4) Produksi bahan-bahan untuk pengelolaan kesehatan, dan
- 5) Produksi bahan-bahan pendukung untuk industri yang lain

Dalam industri bioteknologi semacam ini, mikrobia dapat digunakan sebagai ;

1) Sebagai Agensi Produksi

Pada penggunaan mikrobia semacam ini dapat dimanfaatkan untuk menghasilkan berbagai macam produk pangan, kesehatan, maupun industri penunjang. Produk pangan yang dihasilkan adalah sebagai berikut :

- a) Produk minuman (beverages), misalnya bir, minuman anggur
- b) Produk pangan, misalnya sebagai starter dalam industri keju,
- c) Asam-asam amino.

2) Sebagai Produk Akhir

Dalam bidang pangan, banyak produk yang berupa biomassa mikrobia yang dikonsumsi secara langsung bersama-sama dengan substrat yang digunakan untuk menumbuhkan mikrobia. Bioma mikroba juga dapat dikonsumsi secara langsung sebagai produk akhir, misalnya dalam bentuk protein sel tunggal (single cell protein). Selain produk pangan, biomassa mikrobia juga dimanfaatkan dalam tahap sebelum panen (pre-harvest), misalnya untuk membuat formulasi pupuk hayati atau pestisida hayati.

D. Peningkatan Kemampuan Fisiologis Mikrobia

Beberapa metode konvensional yang mikrobia yang dapat diterapkan untuk meningkatkan kemampuan fisiologis suatu mikrobia yang dimanfaatkan dalam industri yaitu :

1) Mutagenesis dengan Mutagen Kimia

Teknik mutagenesis secara acak dilakukan dengan tujuan untuk mengubah karakter genetik suatu mikrobia dengan cara melakukan perubahan pada urutan nukleotida suatu gen meskipun perubahannya tidak dapat diarahkan secara spesifik. Mutagenesis secara acak dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa agensia, yaitu :

a) Agensia kimia,

Agensia kimia yang dapat digunakan untuk melakukan mutagenesis adalah :

? Analog basa, adalah suatu senyawa yang mempunyai struktur kimia yang mirip dengan salah satu basa nukleotida sehingga struktur kimia yang mirip dengan salah satu basa nukleotida sehingga dapat dihibungkan dengan molekul DNA dalam proses replikasi. Analog basa dapat menginduksi terjadinya mutasi karena dapat menyebabkan kesalahan dalam penyisipan nukleotida pada untai DNA pasangannya.

? Mutagen kimia adalah senyawa yang dapat mengubah suatu basa nukleotida di dalam untai DNA sehingga spesifitas ikatan hidrogennya berubah. Senyawa mutagen itu sendiri tidak akan bergabung ke dalam struktur DNA. Beberapa contoh mutagen kimia antara lain asam nitrit (HNO_2), hidroksilamin (HA), etilmetan sulfonat (EMS), dan nitroso guanidin (NG).

b) Mutagen Fisik,

Mutagenesis dapat juga dilakukan dengan menggunakan mutagen fisik, misalnya sinar ultra violet menyebabkan terbentuknya dimer thymine. Dimer thymine terbentuk karena dua residu thymine yang berdekatan dalam satu untai DNA yang sama bergabung melalui ikatan cicin siklobutana.

c) Secara Terarah (Site-Directed Mutagenesis)

Metode mutasi seperti yang telah dijelaskan di dapat digunakan untuk menghasilkan varietas atau strain-strain baru baik untuk kepentingan analisis strain mikrobia yang unggul, bahkan dapat diterapkan untuk jasad tinggi, misalnya tanaman. Akan tetapi, metode-metode tersebut mempunyai kelemahan yang perubahannya terjadi secara acak sehingga kita tidak mengetahui secara tepat perubahan pada urutan nukleotida yang terjadi sehingga efek fisiologisnya juga tidak diperbaiki.

BIOTEKNOLOGI PUPUK HAYATI

Yang banyak diperlukan seperti nutrisi, nitrogen dan fosfat adalah dua unsur yang paling banyak dibutuhkan dan diperlukan oleh tanaman. Salah satu alternatif pupuk buatan semacam ini adalah pupuk hayati. Pupuk hayati adalah suatu bahan yang berasal dari jasad hidup, khususnya mikrobia, yang digunakan untuk meningkatkan kualitas dan kuantitas produksi suatu tanaman. Dalam hal ini dimaksudkan dengan berasal dari jasad hidup adalah mengacu pada hasil proses mikrobiologis. Oleh karena itu istilah pupuk hayati lebih cepat disebut sebagai inokulan mikrobia, seperti yang dikemukakan oleh Rao (1982).

Pupuk hayati berbeda dengan pupuk kimia buatan, misalnya urea, TSP dan lain-lain, karena dalam pupuk hayati komponen utamanya adalah jasad hidup yang pada umumnya diperoleh dari alam tanpa ada penambahan bahan kimia, kecuali bahan kimia yang diperlukan untuk mendukung pertumbuhan jasad hidupnya selama dalam penyimpanan.

A. Penambahan Nitrogen Oleh Mikrobia

Nitrogen tersedia dalam jumlah yang melimpah di atmosfer dalam bentuk gas. Nitrogen atmosfer tersebut dapat diubah, melalui serangkaian reaksi, oleh mikrobia prokaryot tertentu menjadi senyawa organik yang dapat digunakan oleh tanaman untuk mendukung pertumbuhannya. Fenomena penambahan nitrogen atmosfer tersebut dikenal sebagai diazotrofi (diazotrophy) atau penambatan nitrogen secara biologis (biological nitrogen fixation) sehingga mikrobia yang mampu melakukan penambatan nitrogen disebut sebagai diazotrof (diazotroph) atau penambatan nitrogen.

Mikrobia yang fungsi utamanya sebagai penyedia unsur nitrogen melalui penambatan nitrogen atmosfer dapat dibedakan menjadi dua kelompok, yaitu :

1) Mikrobia yang hidup bebas (free-living microbes), artinya tidak mempunyai asosiasi spesifik dengan tanaman tertentu.

2) Mikrobia yang melakukan hubungan simbiotik dengan tanaman, oleh karena itu dikenal ada dua macam sistem penambatan nitrogen atmosfer secara biologis yaitu :

a) Penambatan nitrogen secara non-simbiotik, hanya dilakukan oleh kelompok mikroba yang terbatas yang umumnya termasuk kelompok bakteri dan alga biru hijau (Blue Green Algae, sering disingkat sebagai BGA atau sering juga dinamakan sianobakteri/cyanobacteria). Bakteri penambatan nitrogen secara non-simbiotik di klasifikasikan menjadi beberapa kelompok, yaitu :

? Aerob terdiri dari atas famili-famili yang berbeda dan diisolasi dari habitat yang berbeda.

? Anaerob spesies bakteri anaerob penambatan nitrogen non-simbiotik antara lain termasuk dalam genus *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Mycobacterium*, dan *Azospirillum* (genus ini lebih umumnya bersifat Mikro-aerofik)

? Fakultatif anaerob, antara lain adalah *Klebsiella Rhodospseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhodospirillum*/

b) Penambatan Nitrogen Secara Non-Simbiotik, semua mikroba diazotrof suatu kompleks enzim yang berperan dalam proses penambatan nitrogen, yaitu pengubahan N_2 atmosfer menjadi NH_3 . Enzim ini disebut sebagai Kompleks Nitrogenase yang tersusun atas dua metalloprotein yaitu Protein Molybdo-ferro (protein Mo-Fe) berukuran 240 kD yang berperan sebagai nitrogenase reduktase, dan berperan sebagai katalis.

c) Mikroba Penambatan Nitrogen Secara Simbiotik, beberapa mikrobia mampu melakukan penambatan nitrogen atmosfer melalui hubungan simbiotik dengan tanaman tertentu. Hubungan simbiotik tersebut dapat dilakukan dengan membentuk struktur tertentu pada tanaman, misalnya dalam membentuk struktur khusus.

Bakteri pembentuk bintil akar dibedakan menjadi empat kelompok besar :

? Genus I: Rhizobium, yaitu suatu kelompok bakteri yang termasuk cepat (fast Growing bacteria). Spesies-spesies yang termasuk dalam kelompok adalah : *R. leuguminosarum*, *R. meliloti*.

? Genus II : Bradyrhizobium, yaitu suatu kelompok bakteri yang tumbuh lambat. Spesies-spesies bakteri yang termasuk dalam kelompok adalah ; *B. japonicum*, *Bradyrhizobium sp.*

? Genus III: Sinorhizobium, yaitu kelompok bakteri yang tumbuh cepat yang terbentuk bintil akar dengan kedelai. Bakteri ini dahulu diberi nama *Rhizobium fredii*

d) Genus IV: Azorhizobium, yaitu suatu kelompok yang hanya mempunyai satu spesies yang disebut *A. caulinodans*.

B. Pembentukan Simbiosis Antara Rhizobiumlegume

Secara umum tahap pembentukan bintil akar pada tanaman legum terjadi melalui beberapa tahap, yaitu :

- 1) Pengenalan pasangan yang sesuai antara tanaman dengan bakteri yang diikuti oleh pelekatan bakteri *Rhizobium* pada permukaan rambut akar tanaman.
- 2) Invasi rambut akar oleh bakteri melalui pembentukan benang infeksi (infection thread)
- 3) Perjalanan bakteri ke akar utama melalui benang infeksi
- 4) Pembentukan sel-sel bakteri yang mengalami deformasi, yang disebut sebagai bakteroid, di dalam sel akar tanaman.
- 5) Pembelahan sel tanaman dan bakteri sehingga terbentuk bintil akar.

C. Mekanisme Penambatan Nitrogen Di Dalam Bintil Akar

Bintil akar yang tanaman legum yang sehat berwarna kemerah-merahan seperti haemoglobin. Warna merah pada bintil akar disebabkan oleh adanya pigmen yang disebut leghaemoglobin (LHb) yang mengandung besi. LHb mempunyai karakteristik seperti myoglobin yang ada pada hewan. Leghaemoglobin hanya ditemukan pada tanaman yang sehat pada bintil akar.