

# **Microbial Growth Control**

**Oleh :**

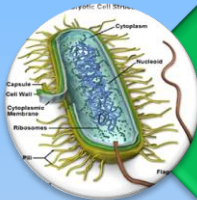
**Jaya Mahar Maligan, STP, MP**

**Mochamad Nurcholiz, STP, MP**

# OVERVIEW



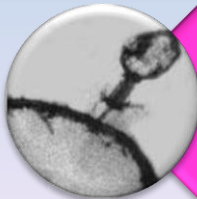
Kondisi penyebab kematian mikroba



Laju kematian mikroba

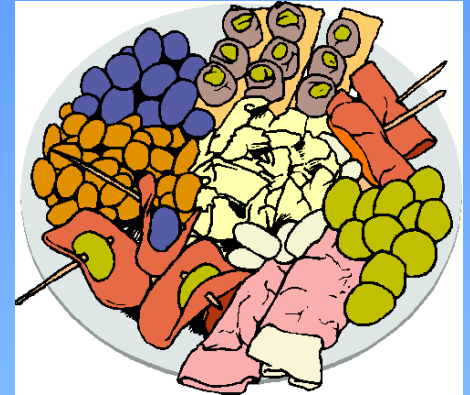


Penghambatan mikroba secara fisik



Penghambatan mikroba secara kimiawi

# Sejarah



- Penggunaan proses penggaraman, pengasapan, pemanasan dan pengeringan pada makanan untuk mengendalikan pertumbuhan mikroba
- Penggunaan bumbu masak sebagai agen *preservative* / pengawet.

# Sejarah

Ignaz Semmelweiss (1850) dan Joseph Lister (1867) memperkenalkan suatu **teknik aseptis** dalam mencegah kontaminasi pada luka akibat operasi. Sebelum ditemukan teknik aseptik :

1. **Infeksi nosokomial** menyebabkan 10% kematian akibat pembedahan.
2. Lebih dari 25 % ibu meninggal di rumah sakit setelah persalinan



# 1. Kondisi Penyebab Kematian Mikroba



Sterilisasi



Disinfeksi



Dekontaminasi



Antiseptik

# Definisi :

- **Sterilisasi:** Proses mematikan atau menghilangkan segala bentuk mikroba (termasuk endospora) pada suatu obyek.
- **Sterilisasi Komersial :** Proses pemanasan yang dapat membunuh endopora *Clostridium botulinun*, penyebab botulism (keracunan oleh makanan kaleng) .

Sterilisasi komersial tidak membunuh endospora *Thermophilus*, yang dapat hidup diatas suhu 145°C.

# Definisi :

**Desinfeksi** : Proses mengurangi jumlah mikroba patogen khususnya menghilangkan sel vegetatif mikroba atau patogen yang tidak membentuk endospora.

Biasanya digunakan metode fisik atau kimia.

- ◆ **Disinfectant**: digunakan pada benda mati.
- ◆ **Antiseptic**: digunakan pada jaringan hidup (*antiseptis*).
- ◆ **Degerming**: Proses mekanis dalam menghilangkan semua mikroba dalam area tertentu. Misal : penggunaan alkohol pada kulit.
- ◆ **Sanitization**: Penggunaan agen kimia pada peralatan untuk memenuhi standar kesehatan dan meminimalkan penyebaran penyakit. Misal : penggunaan air dan sabun

# Definisi :

**Sepsis:** kerusakan atau kebusukan (yunani). Mengindikasikan adanya kontaminasi bakteri. **Aseptik:** bebas dari kontaminasi

**Teknik Aseptik :** Metode yang digunakan dalam mencegah terjadinya kontaminasi pada peralatan operasi, tenaga kesehatan maupun pasien selama operasi, juga digunakan dalam industri pangan.



# Definisi :

**Bacteriostatic Agent:** Agen atau senyawa yang menghambat pertumbuhan bakteri, tapi tidak membunuh.

**Germicide:** Agen / Senyawa yang dapat membunuh mikroorganisme

- ◆ **Bactericide:** Agen yang membunuh bakteri, kebanyakan tidak dapat membunuh endospora
- ◆ **Viricide:** agen yang dapat membunuh virus.
- ◆ **Fungicide:** agen yang dapat membunuh jamur.
- ◆ **Sporicide:** agen yang dapat membunuh endospora bakteri dan spora jamur.

# **Faktor yang mempengaruhi efektifitas suatu antimikroba**

- 1) Jumlah Mikroba** : Makin banyak mikroba, butuh lebih banyak waktu dalam mengurangi populasinya.
- 2) Jenis mikroba** : Sel vegetatif lebih mudah dikendalikan daripada bentuk endospora
- 3) Lingkungan** : Adanya bahan organik (darah, feces, ludah) cenderung menghambat daya antimikrobia
- 4) Waktu Kontak** : Antimikroba kimia dan radiasi lebih efektif dalam waktu yang lama.

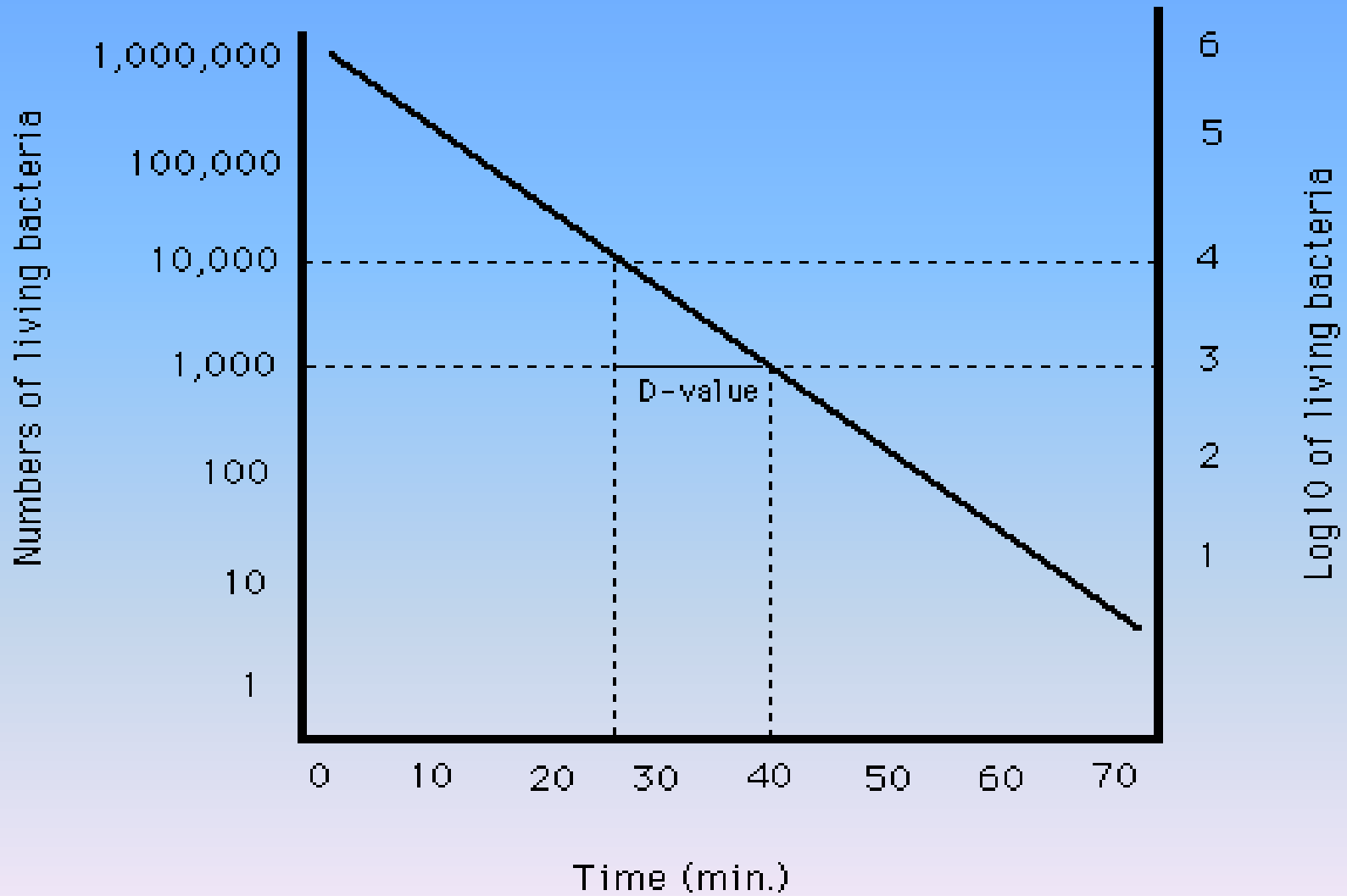
## **2. Laju Kematian Mikroba**

- D-value and Z-value
- Faktor yang mempengaruhi D-value
- TDP (Thermal Death Point)
- TDT (Thermal Death Time)

# D-Value

- **Decimal reduction time** and is the time required at a certain temperature to kill 90% of the organisms being studied.
- Thus after a colony is reduced by 1 D, **only 10%** of the original organisms remain
- **$D_{300F} = 20$  minutes** → a hypothetical organism is reduced by 90% after exposure to temperatures of 300 degrees Fahrenheit for 20 minutes

# D-Value

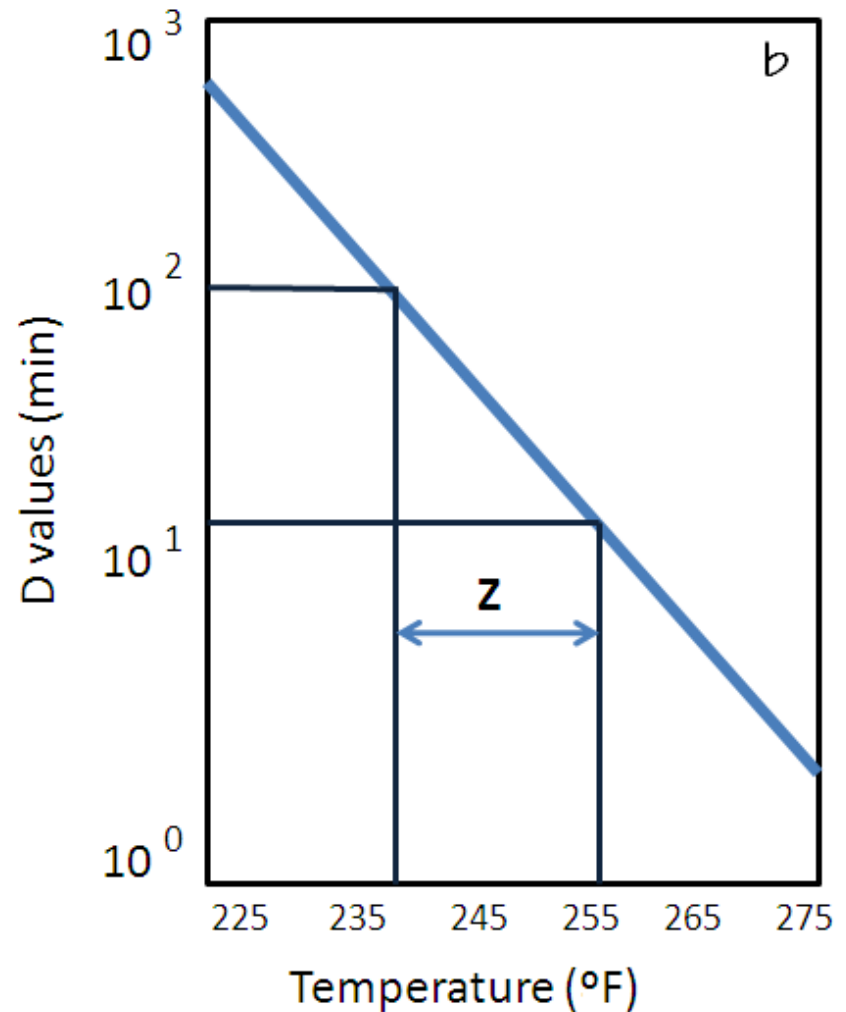
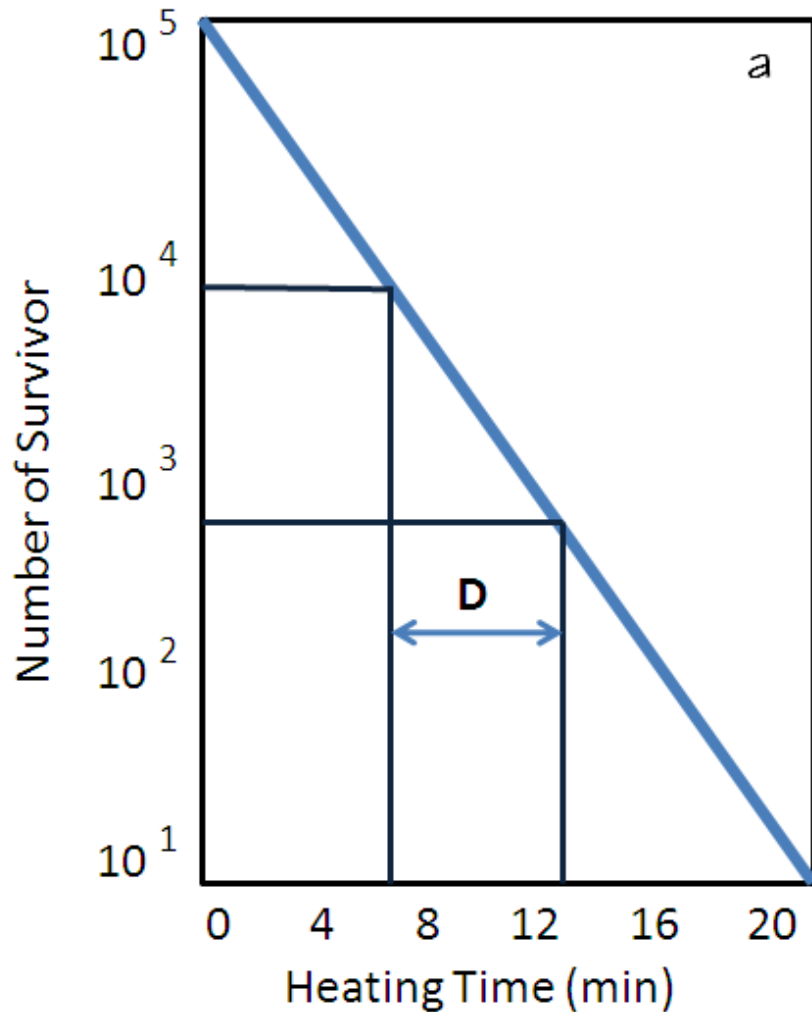


<b>Temperature (°C)</b>	<b>Media</b>	<b>D-value (min)</b>	<b>Reference</b>
51	1 % peptone*	4.90	Blankenship and Craven (1982)
51	Autoclaved ground chicken breast meat*	8.77	
53	1 % peptone*	1.71	Moore and Madden (2001)
53	Autoclaved ground chicken breast meat*	4.85	
57	1 % peptone*	0.25	
57	Autoclaved ground chicken breast meat*	0.79	
49.9	Phosphate-buffered saline**	6.35	
55.4	Phosphate-buffered saline**	1.48	
55	Heart infusion broth*	5.3 ± 0.4	Nguyen et al. (2006)
55	Heart infusion broth**	6.6 ± 0.5	

\**Campylobacter jejuni*

\*\**Campylobacter coli*

# D-value and Z-value



# **Faktor yg mempengaruhi D-value**

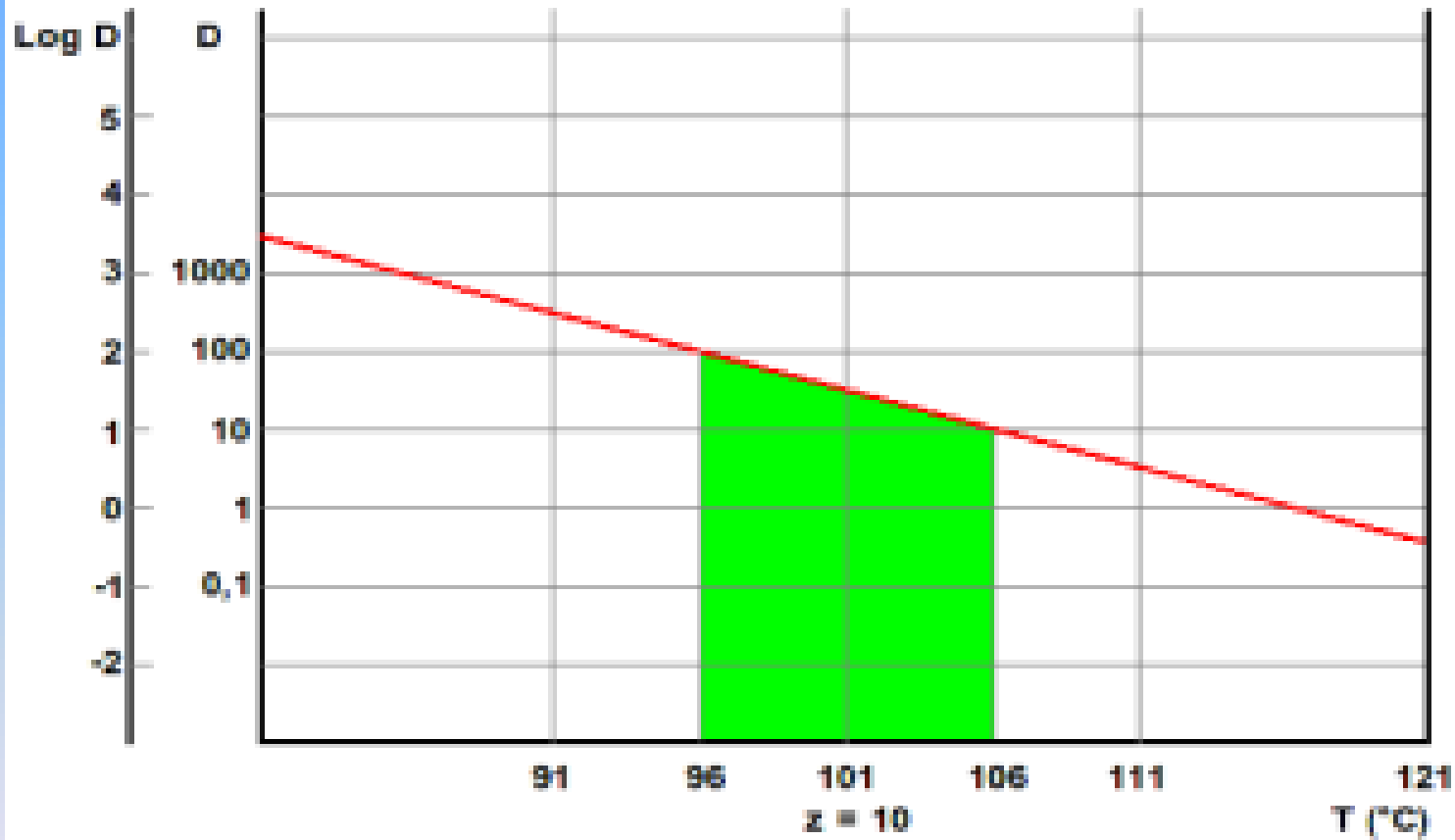
- pH
- Moisture
- Medium composition
- Age of cells
- Number of cells



# Z-value

- a term used in thermal death time calculations
- The z-value of an organism is the **temperature**, in degrees Fahrenheit or Celsius, that is required for the thermal destruction curve to move **one log cycle**
- relates the resistance of an organism to differing temperatures

# Z-value



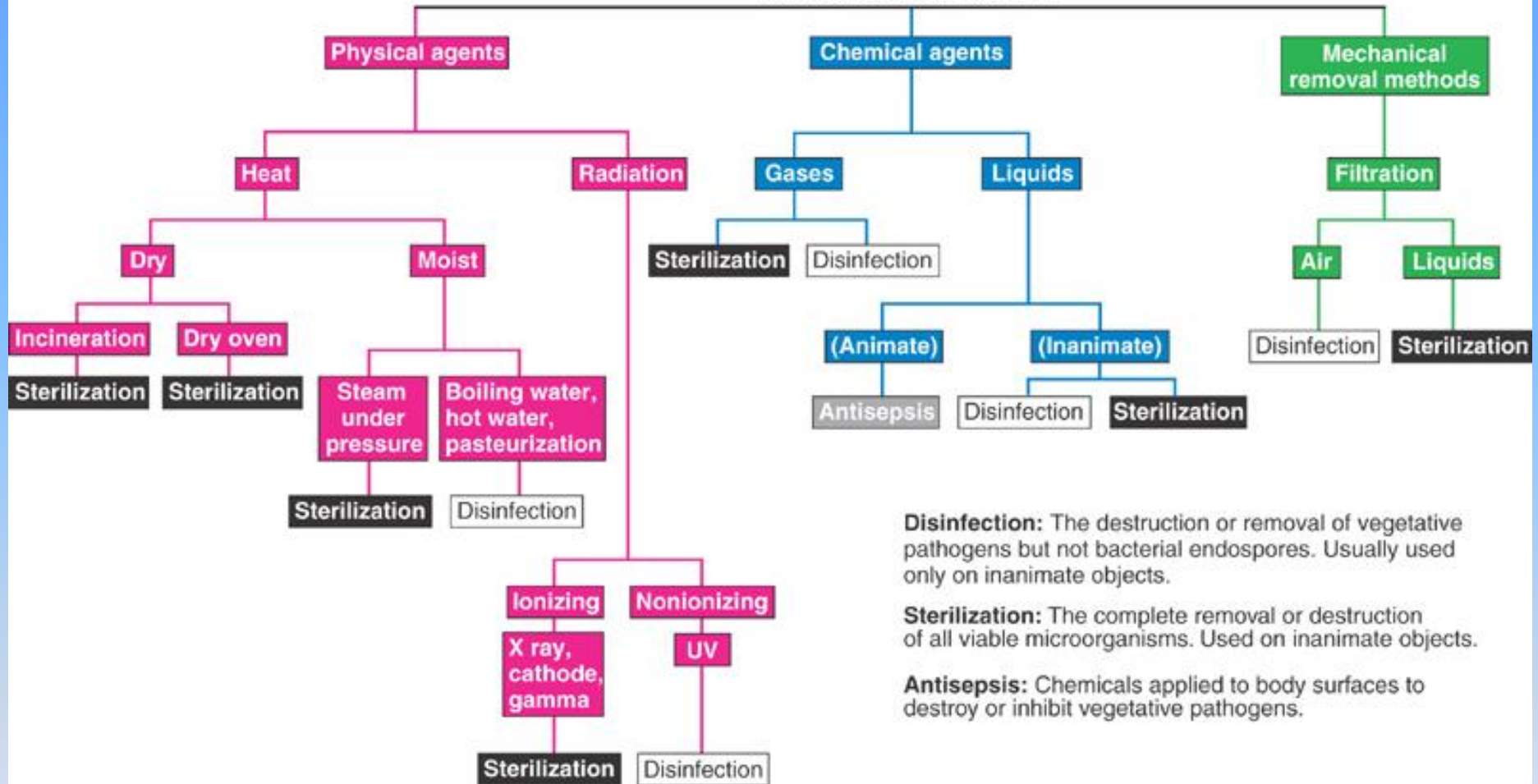
each 10°F increase in temperature will reduce our D-value by 1 log  
D-value for a temperature of 140°F would be 45 minutes

# TDT & TDP

- The thermal death time (TDT) is the **time** required to kill a suspension of cells or spore at a **given temperature**.
- The thermal death point or TDP is the **temperature** at which an organism is killed in **10 minutes**.

# Controlling Microorganisms

- **Physical, chemical, and mechanical methods** to destroy or reduce undesirable microbes in a given area
- Primary targets are microorganisms capable of causing infection or spoilage:
  - vegetative bacterial cells and endospores
  - fungal hyphae and spores, yeast
  - protozoan trophozoites and cysts
  - worms
  - viruses
  - prions



**Disinfection:** The destruction or removal of vegetative pathogens but not bacterial endospores. Usually used only on inanimate objects.

**Sterilization:** The complete removal or destruction of all viable microorganisms. Used on inanimate objects.

**Antisepsis:** Chemicals applied to body surfaces to destroy or inhibit vegetative pathogens.

# 3. Pengendalian Mikroorganisme Secara Fisik

1. Pemanasan
2. Pendinginan
3. Radiasi
4. Filtrasi
5. Pengeringan
6. Osmotik



# Pemanasan

```
graph TD; A[Pemanasan] --> B[Panas Basah]; A --> C[Panas Kering];
```

- Panas Basah
  - Boiling
  - Pasteurization

- Panas Kering
  - Direct Flaming
  - Incineration
  - Hot Air Sterilization

**Pemanasan Basah** : Membunuh m.o dengan mendenaturasi proteinnya. Secara umum lebih efektif dari pemanasan kering

→ alat : autoclave

**Boiling**: Pemanasan dengan perebusan 100°C atau lebih. Membunuh sel vegetatif m.o patogen, kebanyakan virus dan jamur dalam waktu 10 menit atau kurang. Endospora dan beberapa virus tidak dapat dihilangkan secara cepat.

**Hepatitis virus**: Dapat bertahan lebih dari 30 menit perebusan  
**Endospores**: Dapat bertahan lebih dari 20 jam atau lebih



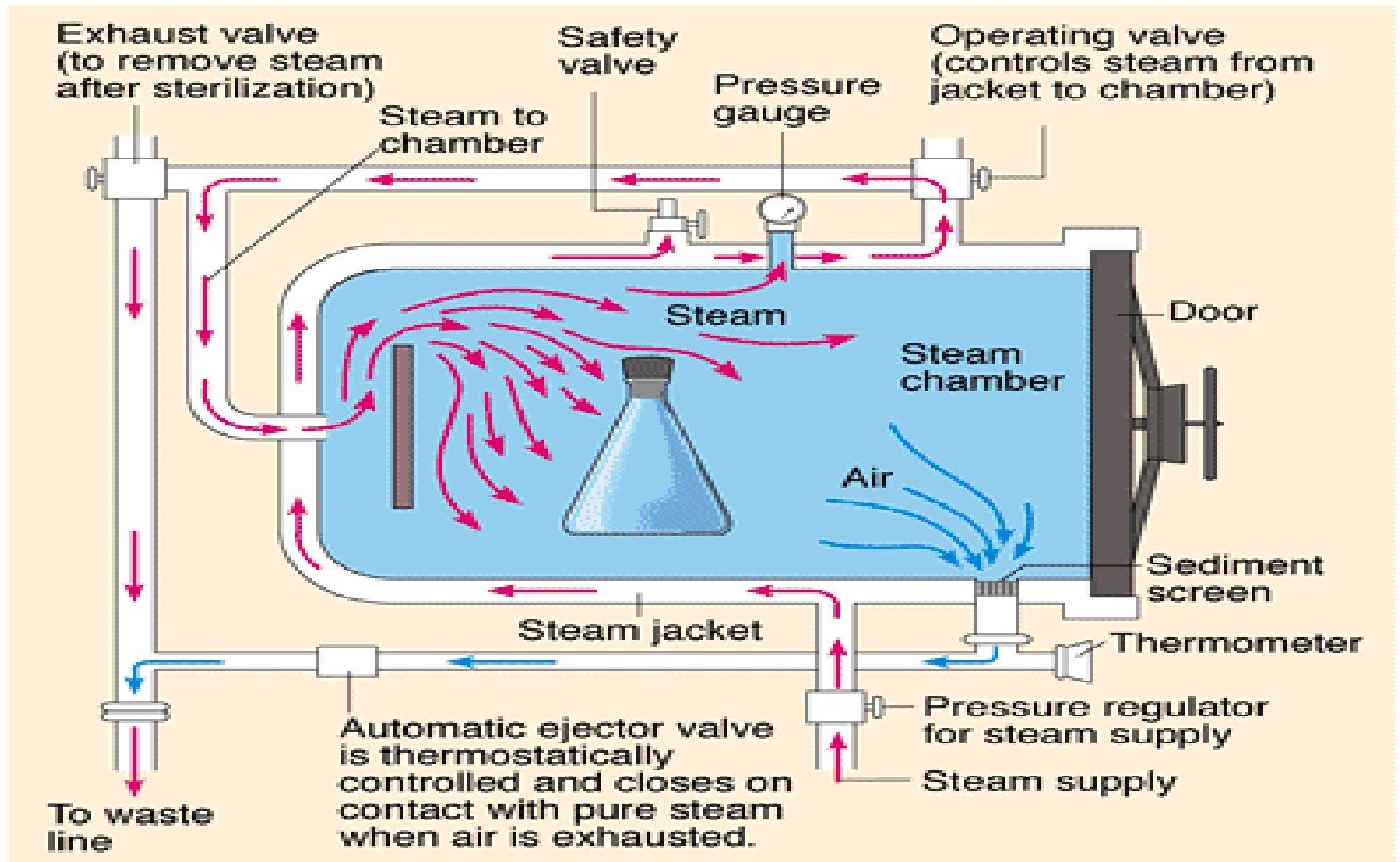
- **Pemanasan Basah** : Membunuh m.o dengan mendenaturasi protein. Secara umum lebih efektif dari pemanasan kering  
→ alat : autoclave



**Autoclave:** Alat sterilisasi dengan menggunakan panas basah (uap panas) dan tekanan tinggi.

- Temperatur uap mencapai  $121^{\circ}\text{C}$ , tekanan 1 atm
- Lebih efektif jika m.o kontak langsung dengan uap panas atau dalam volume yang kecil.
  - **Seluruh m.o dan endospora mati selama proses sterilisasi (15 mnt)**
- Butuh waktu sterilisasi lebih lama untuk bahan padat atau cairan dengan volume yang banyak.

# Autoclave: Closed Chamber with High Temperature and Pressure



◆ **Pasteurisasi** : Dikembangkan Louis Pasteur untuk mencegah kebusukan dari produk minuman, misal : bir, susu, anggur, jus, dll.

◆ **Pasteurisasi Klasik**: pemanasan susu pada 65°C selama 30 mnt.

◆ **High Temperature Short Time Pasteurization (HTST)**: Lebih banyak digunakan saat ini (72°C selama 15 detik)

◆ **Ultra High Temperature Pasteurization (UHT)**: Pemanasan susu pada 140°C selama 3 dtk dan dilanjutkan pendinginan cepat pada ruang hampa udara

◆ **Keuntungan** : susu dapat disimpan pada suhu ruang selama beberapa bulan.



# Panas Kering



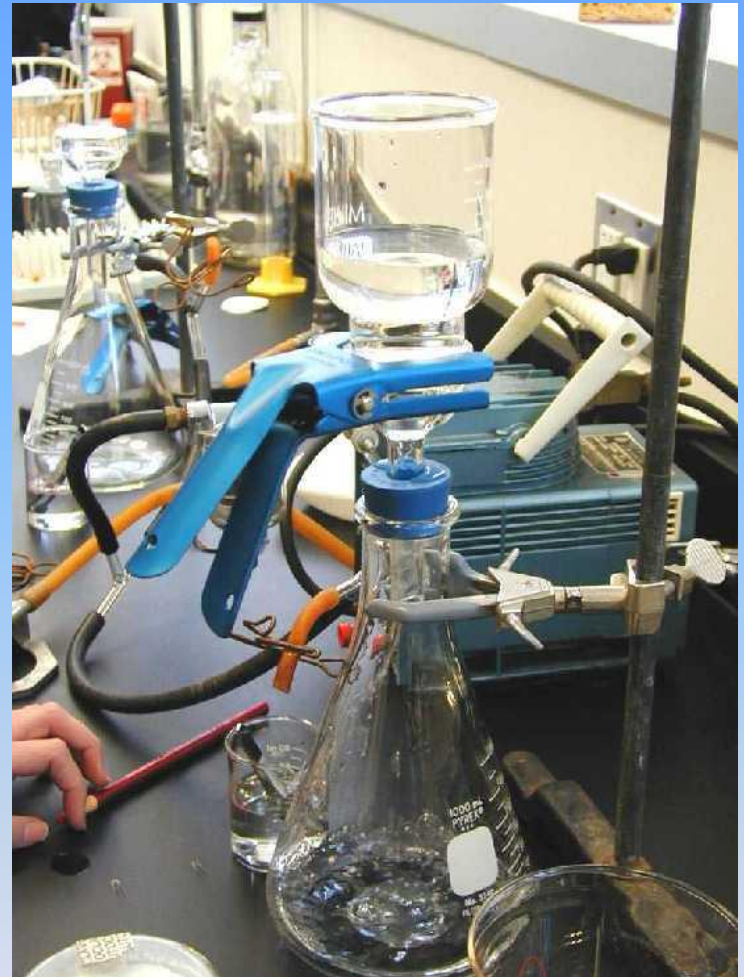
**Api langsung** : Sterilisasi jarum inokulasi untuk pembiakan m.o, dibakar sampai membara.

**Insenerasi** : Efektif untuk sterilisasi bahan habis pakai (cangkir kertas, pakaian) dan limbah

**Udara Panas** : Pemanasan dengan oven suhu  $170^{\circ}\text{C}$  selama 2 jam, tidak sesuai untuk bahan cair

# Filtrasi / Penyaringan

→ Proses menghilangkan m.o dengan melewati suatu sampel (gas atau cair) pada bahan yang mempunyai pori-pori kecil.



# Filtrasi

Digunakan untuk sterilisasi bahan yang sensitif panas seperti vaksin, enzim, antibiotik, dan beberapa media pertumbuhan m.o



**High Efficiency Particulate Air Filters (HEPA):** Digunakan dalam ruang steril untuk menghilangkan m.o dari udara.





# Filtrasi



## Membrane Filters:

Suatu membran penyaring m.o, banyak digunakan di industri, dengan ukuran pori:

- ◆ **0.22 and 0.45 $\mu$ m** : digunakan untuk menyaring bakteri, tidak efektif untuk spirochaeta, mikoplasma dan virus.
- ◆ **0.01  $\mu$ m** : semua virus

# Low Temperature



- Refrigeration (Pendinginan)
- Freezing (Pembekuan)

## **Refrigeration: Temperatur 0 to 7°C.**

Bacteriostatic effect. Menurunkan laju metabolisme m.o sehingga tidak dapat melakukan reproduksi dan tidak membentuk toksin.

## **Freezing: Temperatur dibawah 0°C.**

- ◆ **Flash Freezing:** Tidak membunuh semua m.o.
- ◆ **Slow Freezing:** Lebih efektif membunuh m.o karena kristal sel yang terbentuk.
- ◆ Lebih dari 1/3 sel vegetatif m.o dapat bertahan hingga 1 tahun
- ◆ Kebanyakan parasit mati dengan pembekuan beberapa hari.

# Desikasi

→ Proses pengurangan kandungan air suatu bahan, misal : pengeringan

→ M.O tidak dapat tumbuh dengan penghilangan air, namun beberapa m.o dapat bertahan hidup sampai 1 tahun. Setelah air tercukupi, m.o dapat tumbuh kembali

***Neisseria gonnorrhoea***: bertahan selama 1 jam.

***Mycobacterium tuberculosis***: dapat bertahan beberapa bulan, virus lebih resisten proses desikasi

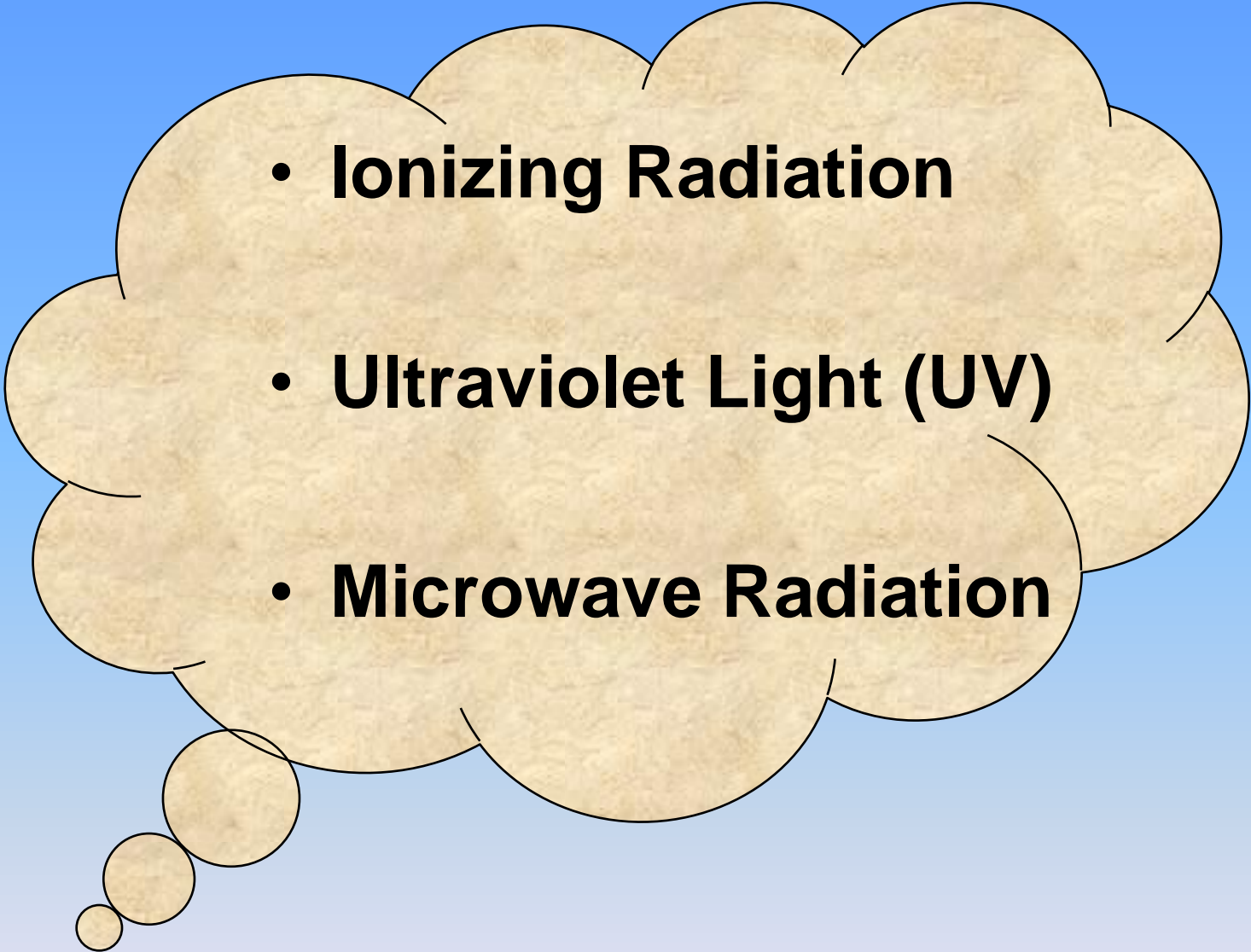
***Clostridium spp.*** and ***Bacillus spp.***: dapat bertahan puluhan tahun.

→ Penggunaan bahan seperti garam atau gula dalam meningkatkan tekanan osmosis (biasanya dalam makanan)

→ Plasmolysis: dengan adanya perbedaan tekanan, air akan meninggalkan sel, membran sel akan mengkerut dan metabolisme dan pertumbuhan terganggu bahkan menghentikan pertumbuhan m.o.

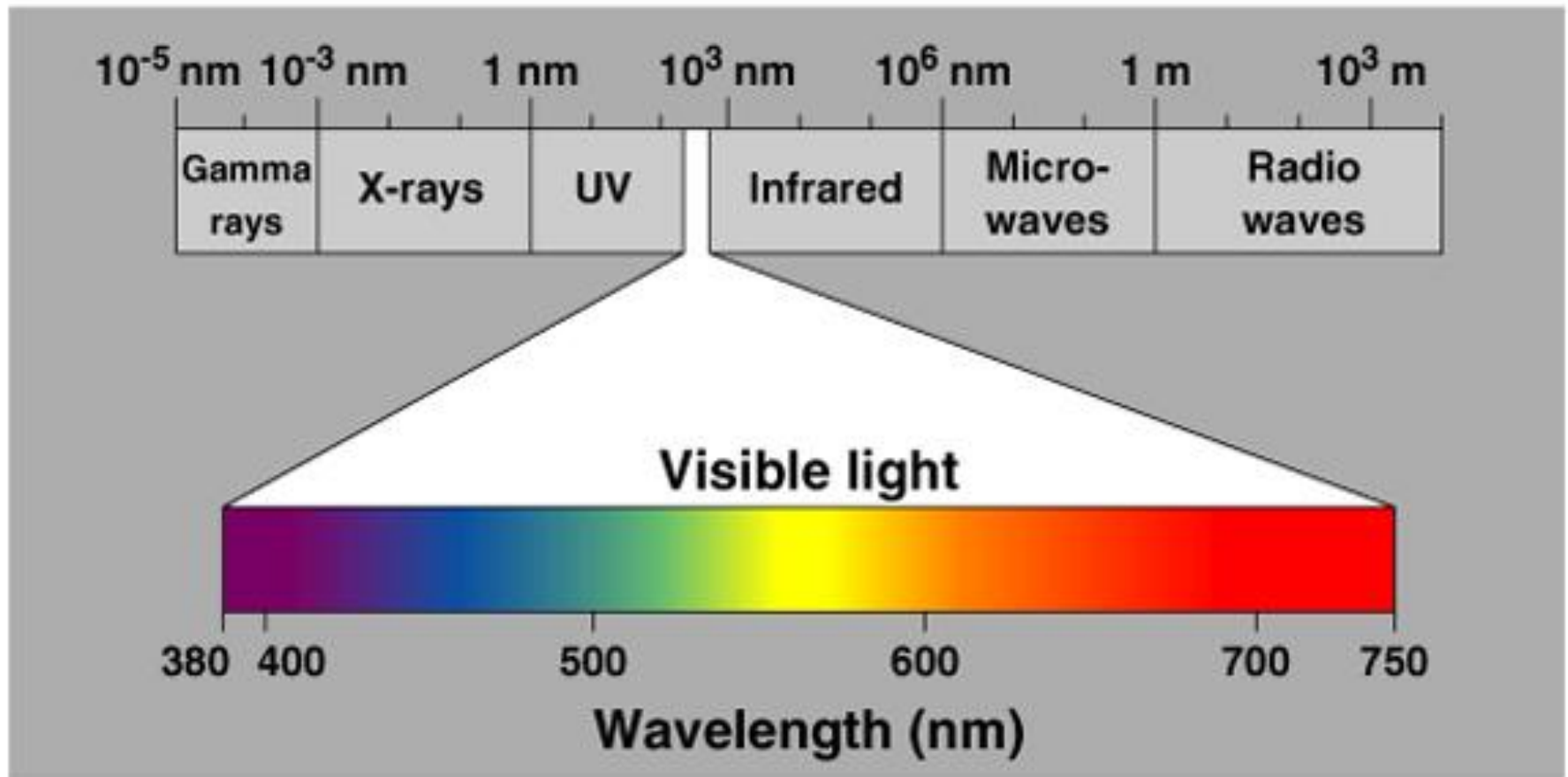
- ◆ **Yeasts and molds:** More resistant to high osmotic pressures.
- ◆ ***Staphylococci spp.*** Lebih resisten

## Tekanan Osmosis

- 
- **Ionizing Radiation**
  - **Ultraviolet Light (UV)**
  - **Microwave Radiation**

**Radiation**

# Forms of Radiation



## 1. **Ionizing Radiation:**

- Sinar Gamma, sinar X. (panjang gelombang kurang dari 1 nanometer).

- menyebabkan mutasi DNA dan menghasilkan peroksida

- Banyak digunakan untuk sterilisasi sediaan farmasi dan alat kesehatan.

- **Kerugian** : penetrasi pada jaringan manusia, menyebabkan mutasi genetik





## 2. Ultraviolet light (Nonionizing Radiation) :

- Panjang gelombang lebih dari 1 nanometer.
- Menyebabkan kerusakan dan mutasi DNA.
- Digunakan untuk sterilisasi ruangan

**Kerugian** : mengakibatkan kerusakan kulit, dan mata.

### 3. Microwave Radiation:

- Panjang gelombang dari 1 milimeter sampai 1 meter
- Panas akibat radiasi diabsorpsi oleh molekul air pada bahan
- Membunuh sel vegetatif pada bahan makanan berkadar air sedang sampai tinggi.
- Endospora yang tidak mengandung air
  - resisten thd microwave radiation.

# **4. Pengendalian Mikroorganismesecara Kimia**

- 1. Pemakaian germisida**
- 2. Pemilihan germisida**
- 3. Uji efektivitas germisida**
- 4. Jenis-jenis germisida**



# Jenis2

## Desinfektan/Germisida :

### 1. Fenol dan Fenolic:

- **Fenol** (carbolic acid) pertama kali digunakan oleh Joseph Lister sebagai desinfektan
  - Jarang digunakan karena mengiritasi kulit dan bau tajam
  - Digunakan sebagai anastesi lokal



- **Fenolic** : senyawa turunan fenol
  - **Cresols**: turunan getah batubara (**Lysol**).
  - **Biphenols (pHisoHex)** : efektif dalam membunuh bakteri gram positif, staphylococcus dan streptococcus, banyak digunakan dalam keperawatan. Penggunaan berlebihan pada bayi, menyebabkan kerusakan saraf.
- Fenol dapat merusak membran plasma dan mendenaturasi protein dari m.o.
- **Keuntungan** : Stabil, tahan lama setelah digunakan

## 2. Halogens:

### A. Iodine:

#### ◆ Tincture of iodine

(iodine dalam alkohol) :antiseptik pertama yang digunakan

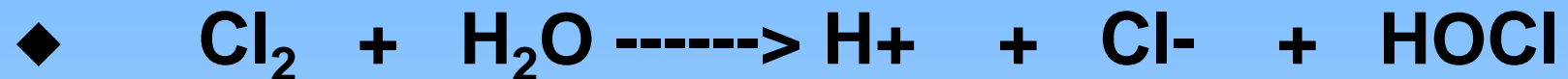
- ◆ Merusak protein sel
- ◆ Warna mudah terserap oleh baju atau kulit, beberapa menyebabkan iritasi
- ◆ **Iodophors:** Senyawa iodine yang bekerja lambat. Digunakan antiseptik dalam operasi. Tidak efektif dalam membunuh endospora.
  - **Betadine, Isodine**



## 2. Halogens:

### B. Chlorine:

- ◆ Membentuk asam hipoklorit jika dicampur air



Asam hipoklorit

- ◆ Agen desinfeksi pada air, limbah dan kolam renang.
- ◆ Cara kerja : oksidasi grup sulfhidril bebas
- ◆ **Chloramines**: Mempunyai kandungan klorin dan amonia, kurang efektif sbg germicida

### 3. Alkohol:

- ◆ Membunuh bakteri, jamur. Kurang efektif pada endospora dan beberapa virus
- ◆ Cara kerja : denaturasi protein, melarutkan membran sel
- ◆ Mudah menguap, tidak meninggalkan residu
- ◆ Digunakan untuk menghilangkan m.o kulit sesaat sebelum injeksi dan pengambilan darah
- ◆ Tidak baik untuk luka terbuka → denaturasi protein
  - ◆ **Ethanol**: Konsentrasi optimum 70%.
  - ◆ **Isopropanol**: Lebih efektif dibandingkan ethanol, lebih murah dan kurang mudah menguap



## 4. Logam Berat:

- ◆ Tembaga, selenium, raksa, perak dan zink
- ◆ Dalam jumlah kecil → efektif

### A. Perak:

- ◆ 1% perak nitrat untuk menjaga infeksi mata pada bayi

### B. Raksa

- ◆ Merthiolate dan mercurochrome digunakan sbg antiseptik luka pada kulit

### C. Tembaga

- ◆ Tembaga sulfat digunakan sebagai agen desinfektan kolam ikan dan kolam renang.

## 4. Logam Berat:

### D. Selenium

- ◆ Membunuh jamur , digunakan dalam infeksi oleh jamur
- ◆ Anti ketombe pada shampo.

### E. Zinc

- ◆ Zinc chloride digunakan sebagai larutan pencuci mulut.
- ◆ Zinc oxide juga sbg anti jamur pada cat.

## 5. Quaternary Ammonium Compounds (Quats) / Deterjen Kationik :

- ◆ Banyak digunakan sebagai desinfektan aktif permukaan
- ◆ Efektif dalam membunuh bakteri gram positif
- ◆ Membunuh jamur, amuba dan virus
- ◆ Merusak permeabilitas membran sel shg terjadi pengerutan membran
- ◆ **Zephiran**, Cepacol,
- ◆ **Keuntungan** : Antimikroba kuat, tidak berwarna, tidak berbau, stabil dan tidak beracun
- ◆ **Kelemahan** : aktivitasnya hilang oleh bahan organik (protein dan serat), banyak dikombinasi dengan fenol, aktivitas virusida terbatas

## **6. Aldehydes:**

- ◆ Termasuk agen antimikroba yg efektif
- ◆ Menginaktivasi kerja protein

### **A. Formaldehyde gas:**

- ◆ Dikenal sebagai formalin, 37% dalam larutan
- ◆ Banyak digunakan dalam mengawetkan spesimen biologis
- ◆ Inaktivasi virus dan bakteri
- ◆ Kerugian : Iritasi kulit dan membran mukosa, bau kuat, perlu waktu lama sebagai desinfektan
- ◆ Juga digunakan sebagai pengawet mayat.

## 6. Aldehydes:

### B. Glutaraldehyde:

- ◆ Lebih tidak mengiritasi dan lebih efektif dibanding formaldehyde.
- ◆ Desinfektan kimia yang bersifat sterilisasi
- ◆ Larutan 2% glutaraldehyde (Cidex) bersifat:
  - ◆ Bactericidal, tuberculocidal, and viricidal dalam 10 minutes.
  - ◆ Sporocidal dalam 3 - 10 jam.
- ◆ Desinfektan dari peralatan RS
- ◆ Juga digunakan sebagai pengawet mayat.

## **7. Gas Sterilisasi:**

- ◆ Mendenaturasi protein

### **A. Ethylene Oxide:**

- ◆ Membunuh semua m.o dan endospora, butuh waktu kontak 4-18 jam
- ◆ Beracun dan mudah meledak dalam sediaan murni
- ◆ Antimikroba kuat.
- ◆ Banyak digunakan untuk sterilisasi bahan yang sensitif panas
- ◆ Banyak digunakan di RS, sterilisasi matras dan berbagai peralatan.

## **8. Peroxygens (Oxidizing Agents):**

- ◆ Mengoksidasi komponen selular m.o.
- ◆ Merusak membran dan protein.

### **A. Ozone:**

- ◆ Digunakan bersama klorin dalam desinfeksi air
- ◆ Membantu menetralkan rasa dan bau dari air
- ◆ Lebih efektif dari klorin, krg stabil dan mahal
- ◆ Didapat dari reaksi oksigen dengan listrik atau UV, sangat reaktif

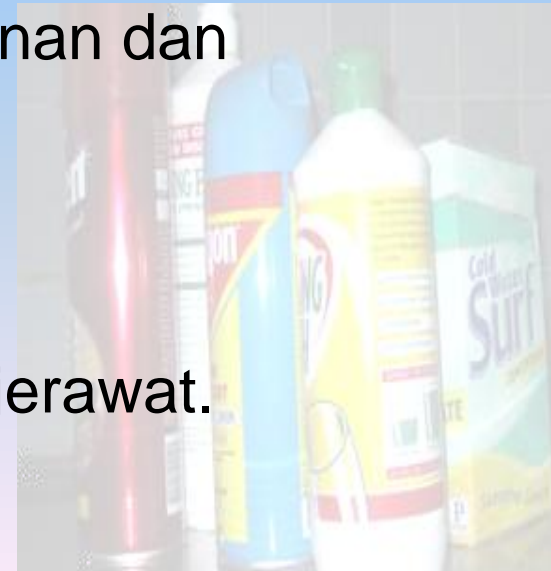
## 8. Peroxygens (Oxidizing Agents):

### B. Hydrogen Peroxide:

- ◆ Antiseptik → larutan 3% untuk desinfeksi luka
- ◆ Tidak untuk luka terbuka, dapat mengoksidasi sel
- ◆ Efektif untuk mendesinfeksi obyek tak hidup
- ◆ Sporosida pada suhu tinggi
- ◆ Banyak digunakan dalam industri makanan dan desinfeksi lensa kontak.

### C. Benzoyl Peroxide:

- ◆ Banyak digunakan dalam pengobatan jerawat.





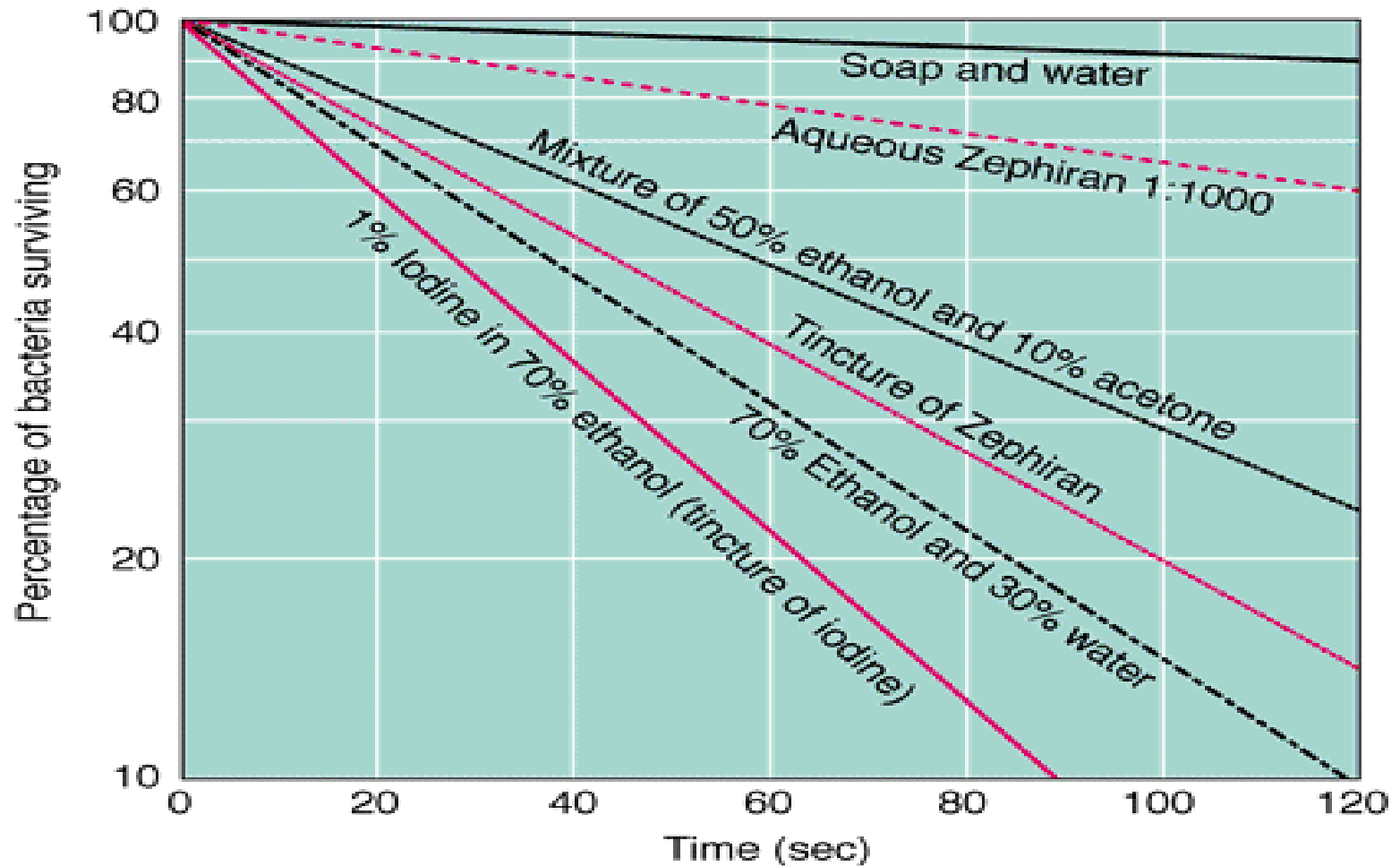
## 8. Peroxygens (Oxidizing Agents):

### D. Peracetic Acid:

- ◆ Salah satu cairan sporosida yang efektif.
- ◆ **Sterilant :**
  - ◆ Membunuh bakteri dan jamur kurang dari 5 mnt
  - ◆ Membunuh endospora dan virus dalam 30 mnt
- ◆ Banyak digunakan sbg desinfektan produk makanan dan peralatan medis, tidak meninggalkan residu berbahaya



# Efektifitas Antimikroba Beberapa Agen Kimia



*Thank You...*



*To be continued.....*