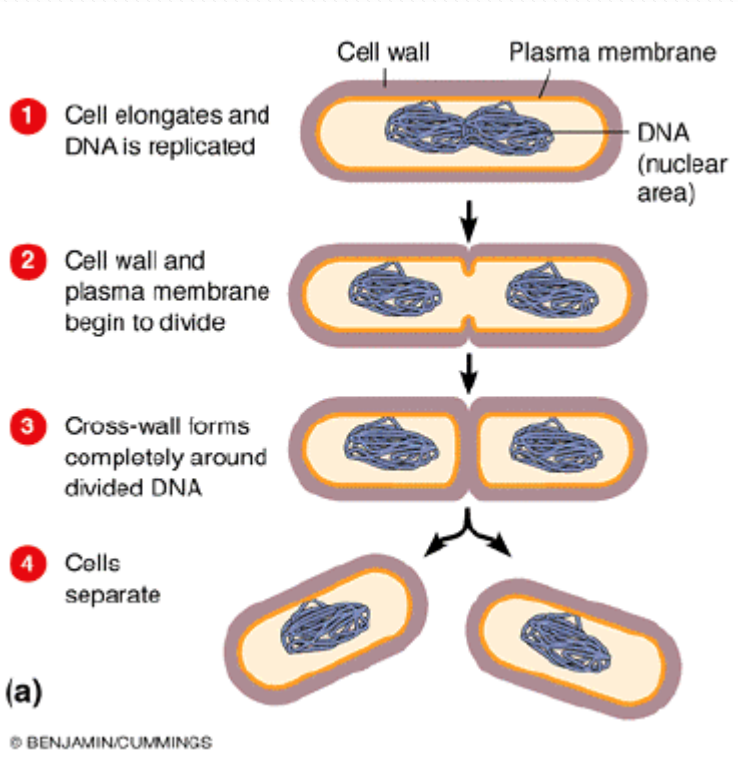
Pertumbuhan Bakteri

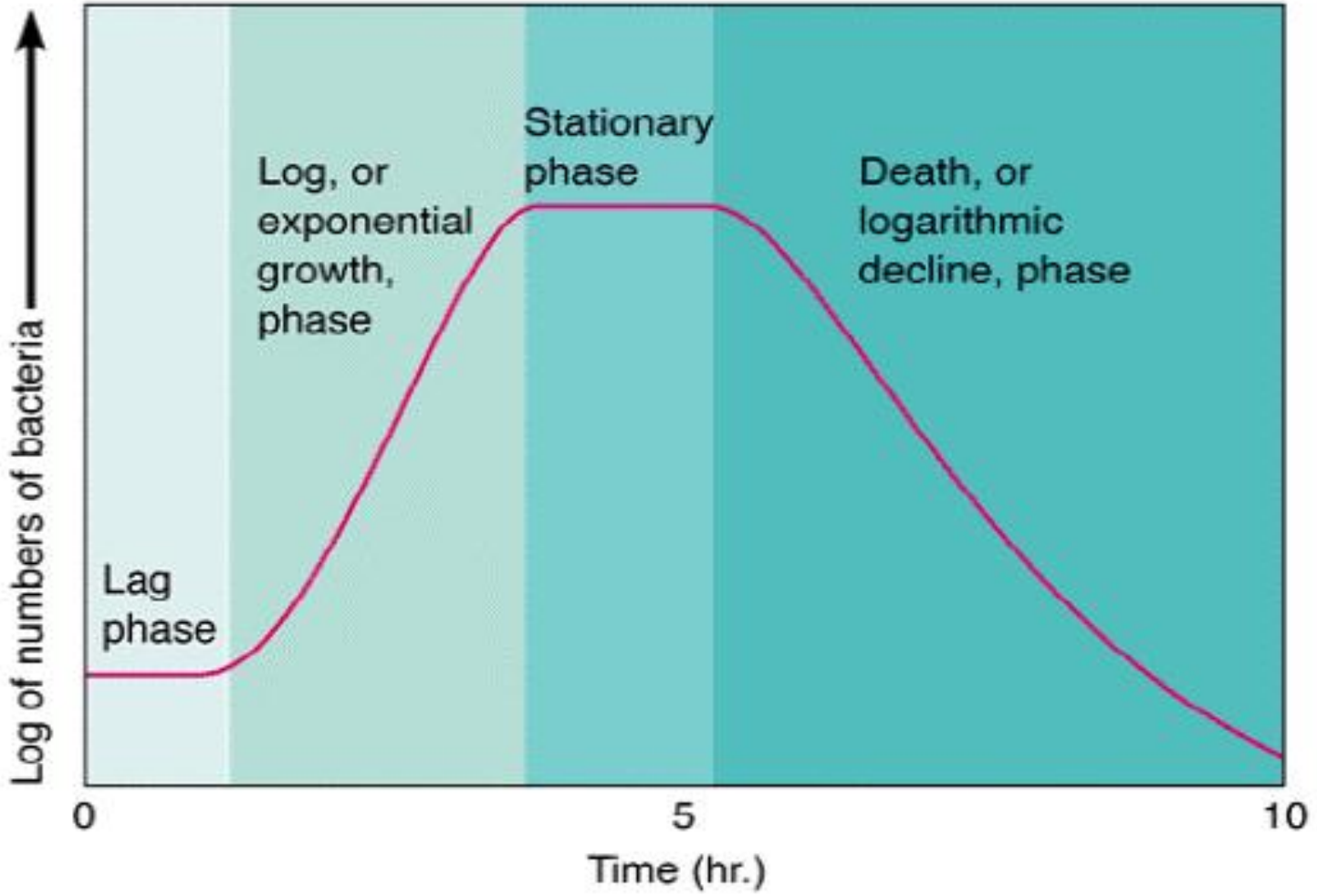
Dr. Widodo Hadisaputro, M.Sc

Pertumbuhan Bakteri

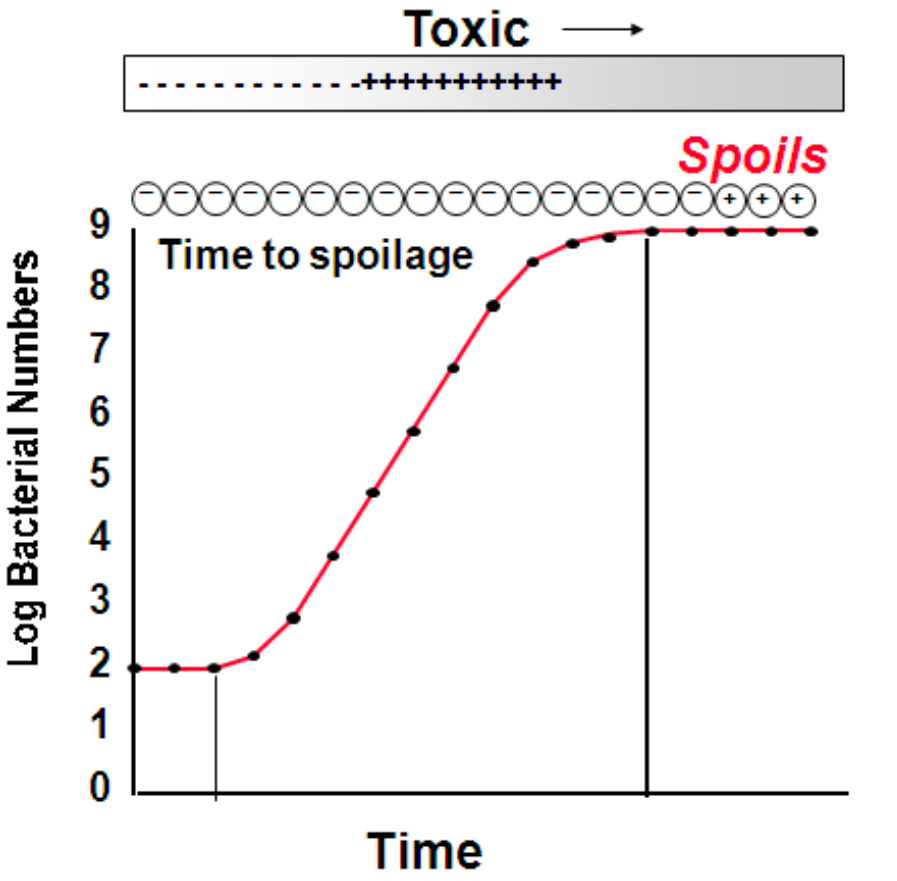
- Lebih mengacu pada Jumlah Sel bukan Ukuran Sel
- Bakteri tumbuh dan membelah dengan binary fission (pembelahan menjadi dua bagian) dan merupakan proses yang simpel



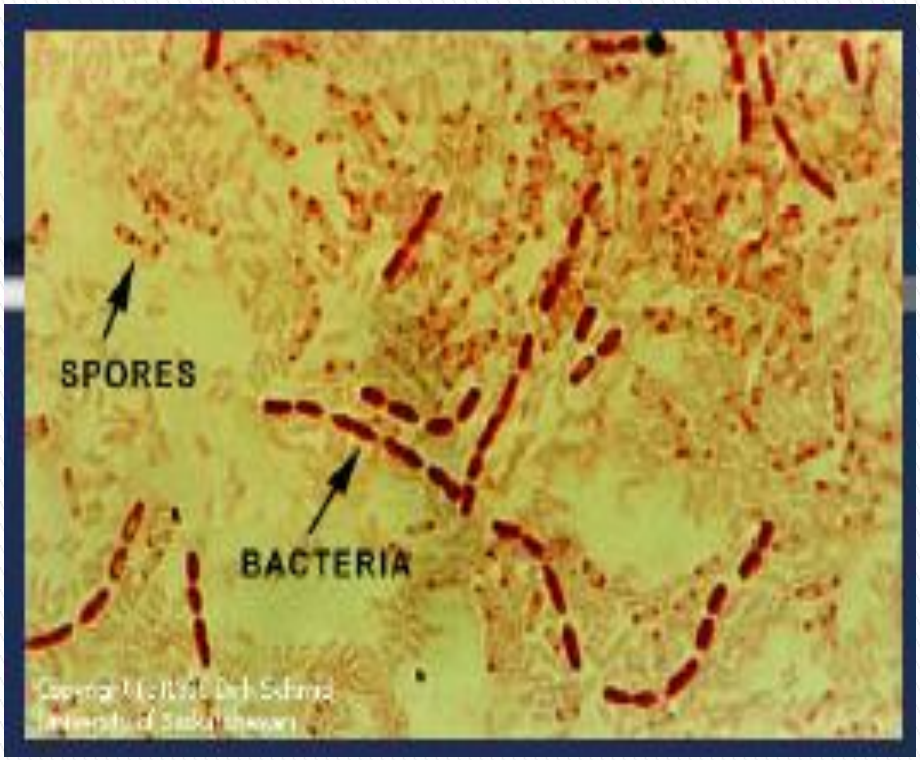
Empat (4) Phase Pertumbuhan Bakteri



Bacterial growth curve

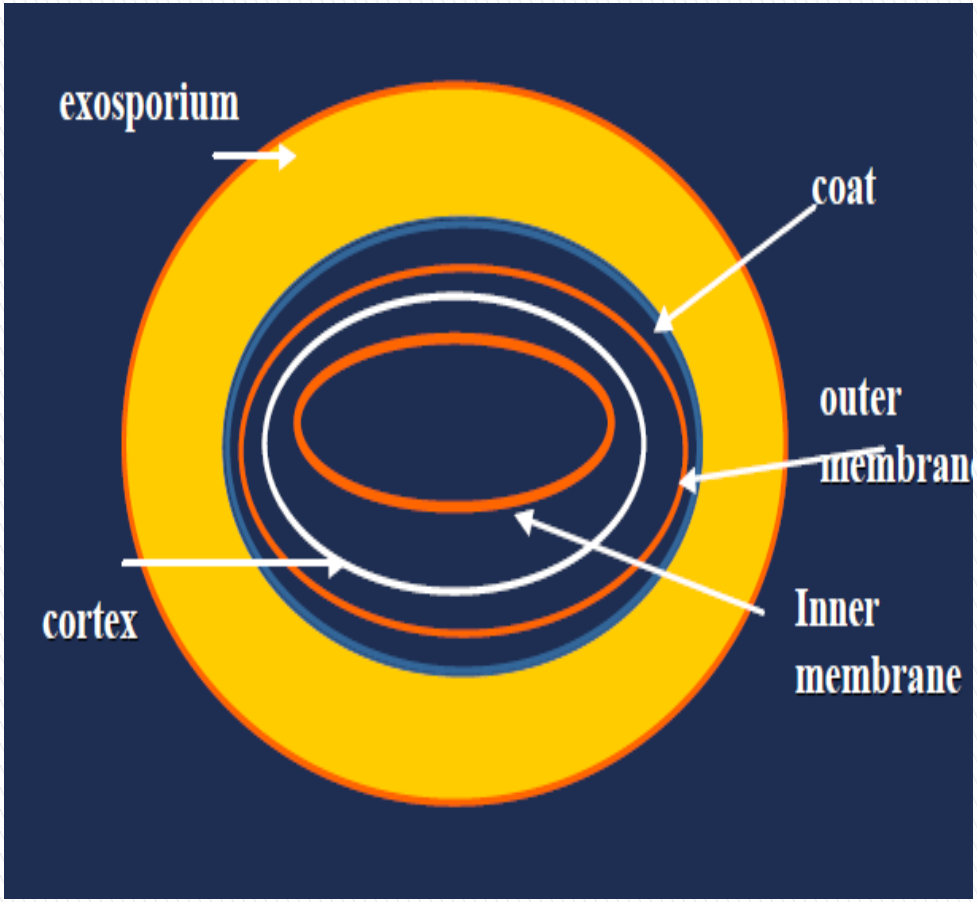


Endospora



- Disintesis didalam sel
- Diproduksi dalam kondisi stress
- Dorman (seperti biji)
- Tahan pemanasan 10 menit (pasteurisasi)
- Tahan pengeringan
- Tahan desinfektan
- *Bacillus, Clostridium* (dalam tanah)

Endospora


exosporium
coat
outer
membran
cortex
Inner
membrane


spores

Faktor Pertumbuhan Mikrobia

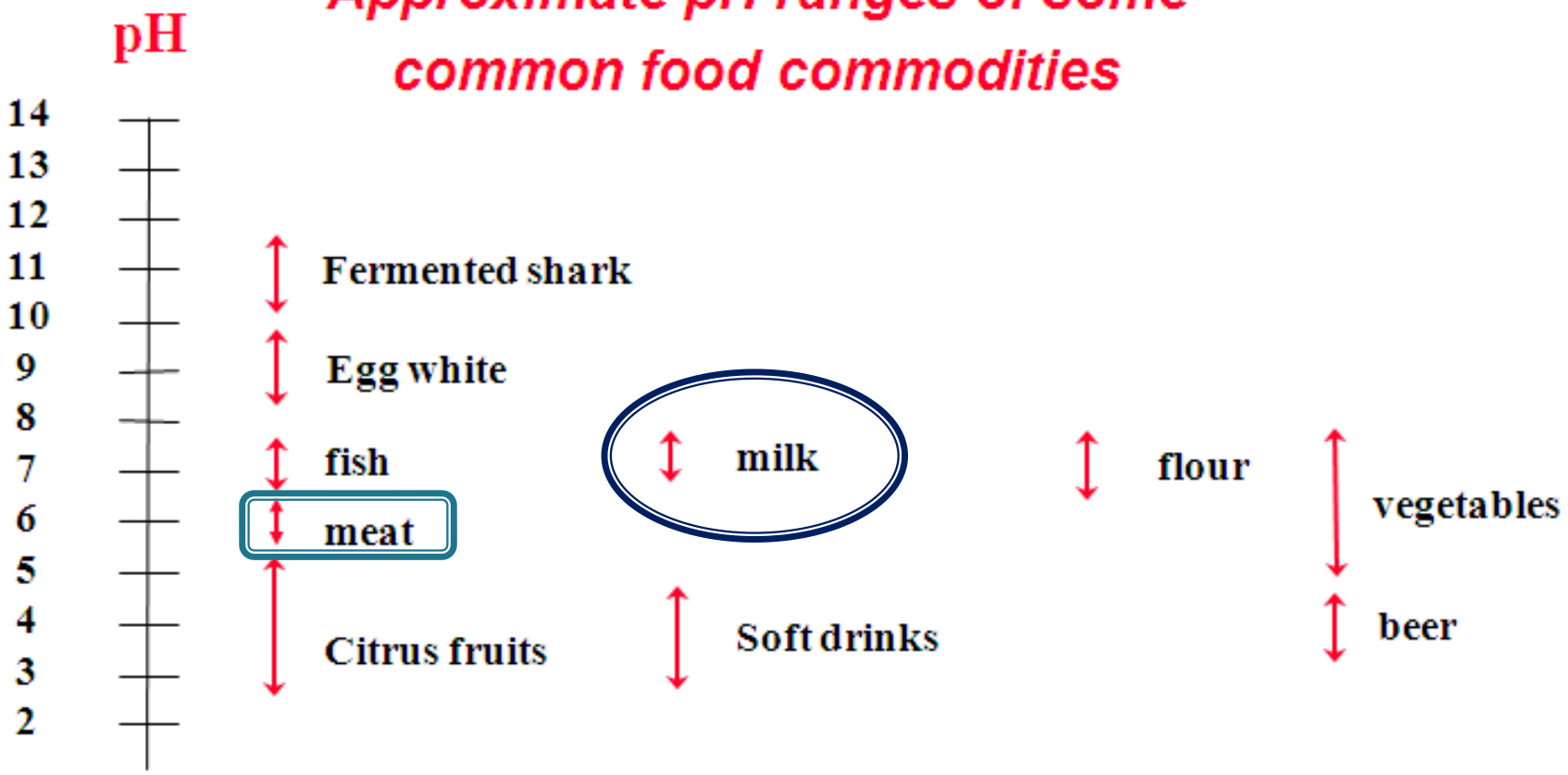
- Ketersediaan Nutrien
- pH
- Ketersediaan Oksigen (aerobik dan anaerobik)
- Suhu (psikrofilik, mesofilik, termofilik) dan kelembaban
- Phase pertumbuhan

Faktor Pertumbuhan Beberapa Patogen

Mikrobia	Suhu (C)	pH	Activity water (Aw)
Salmonella sp	6,5-47	4,5-9	>0,95
Clostridium botulinum	10-50	4,7=9	>0,93
Staphylococcus aureus	7-45	2,6-10	>0,86
Listeria monocytogenes	2-45	4,8-9,6	>0,95
Clostridium jejuni	25-42	5,5-8	>0,95

pH of different foods

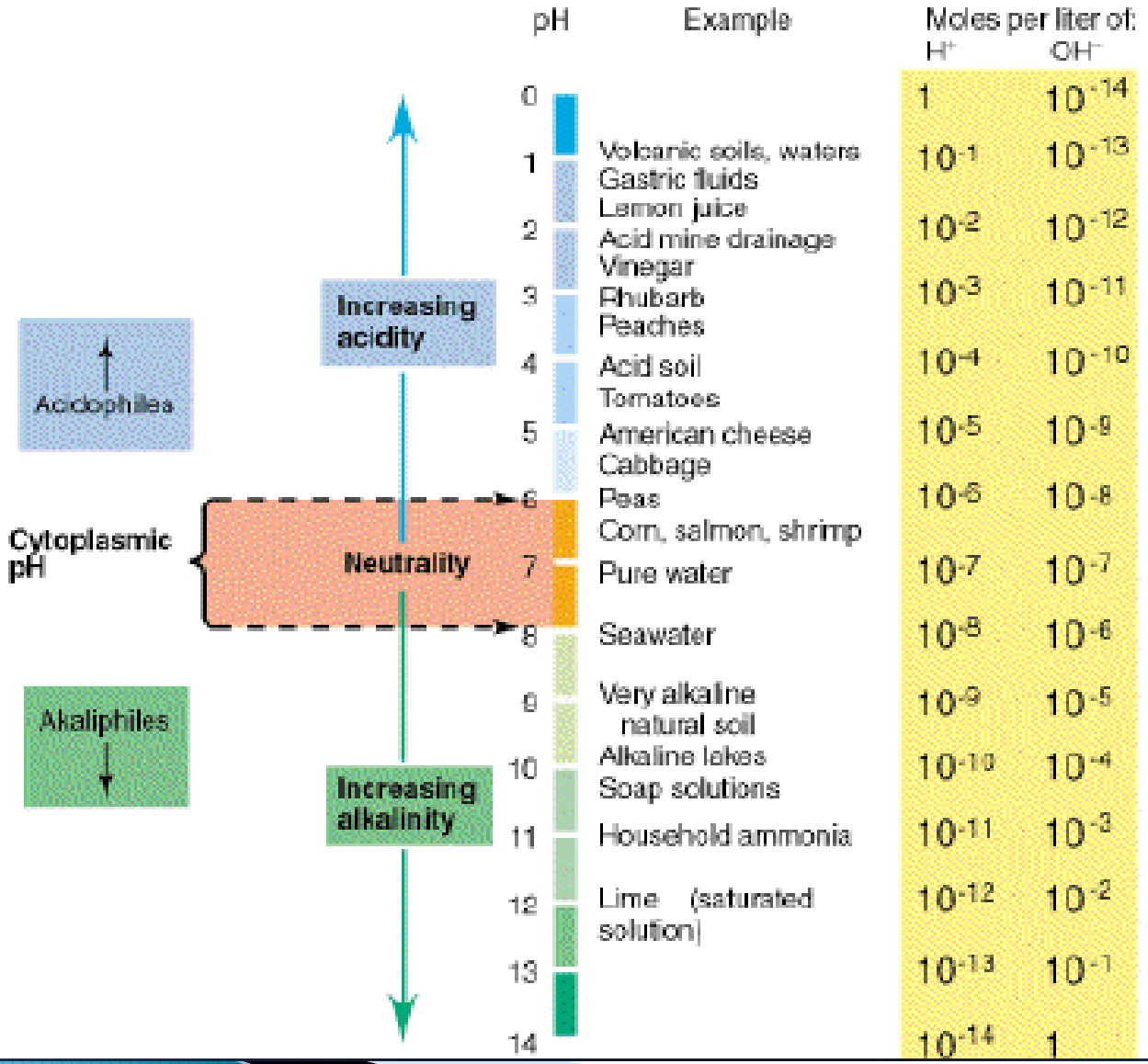
Approximate pH ranges of some common food commodities



pH values limiting the growth of pathogens

	pH	
	Min.	Max.
Escherichia coli	4.4	8.5
Salmonella typhi	4 - 4.5	8 - 9.6
Bacillus cereus	4.9	9.3
Clostridium botulinum	4.6	8.5
Staphylococcus aureus	4	9.8
Saccharomyces cerevisiae	2.3	8.6
Aspergillus flavus	2.0	11.2
Fusarium moniliforme	2.5	10.7
Penicillium verrucosum	2.0	10.0

pH dan Pertumbuhan Bakteri

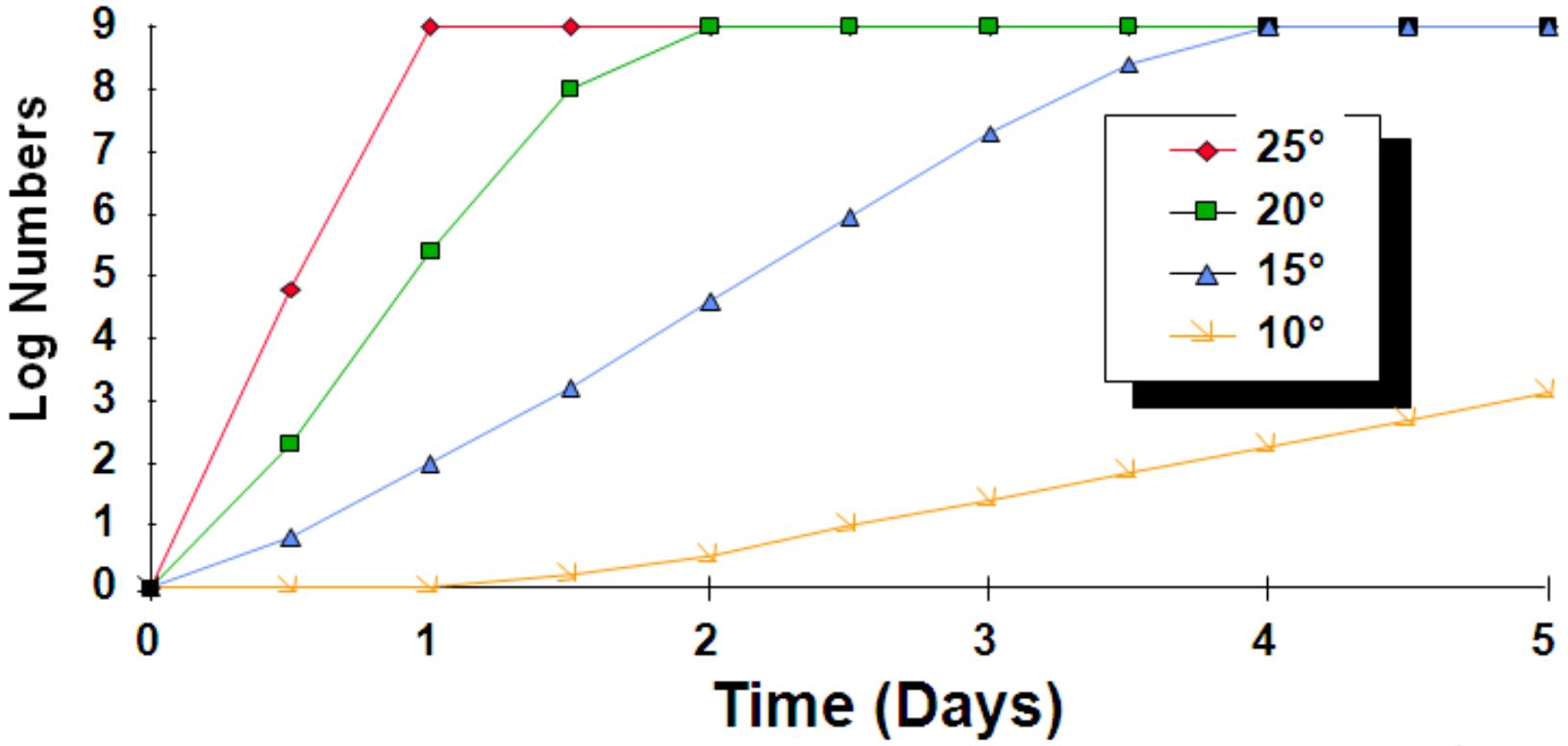


Temperature range for growth of pathogenic bacteria

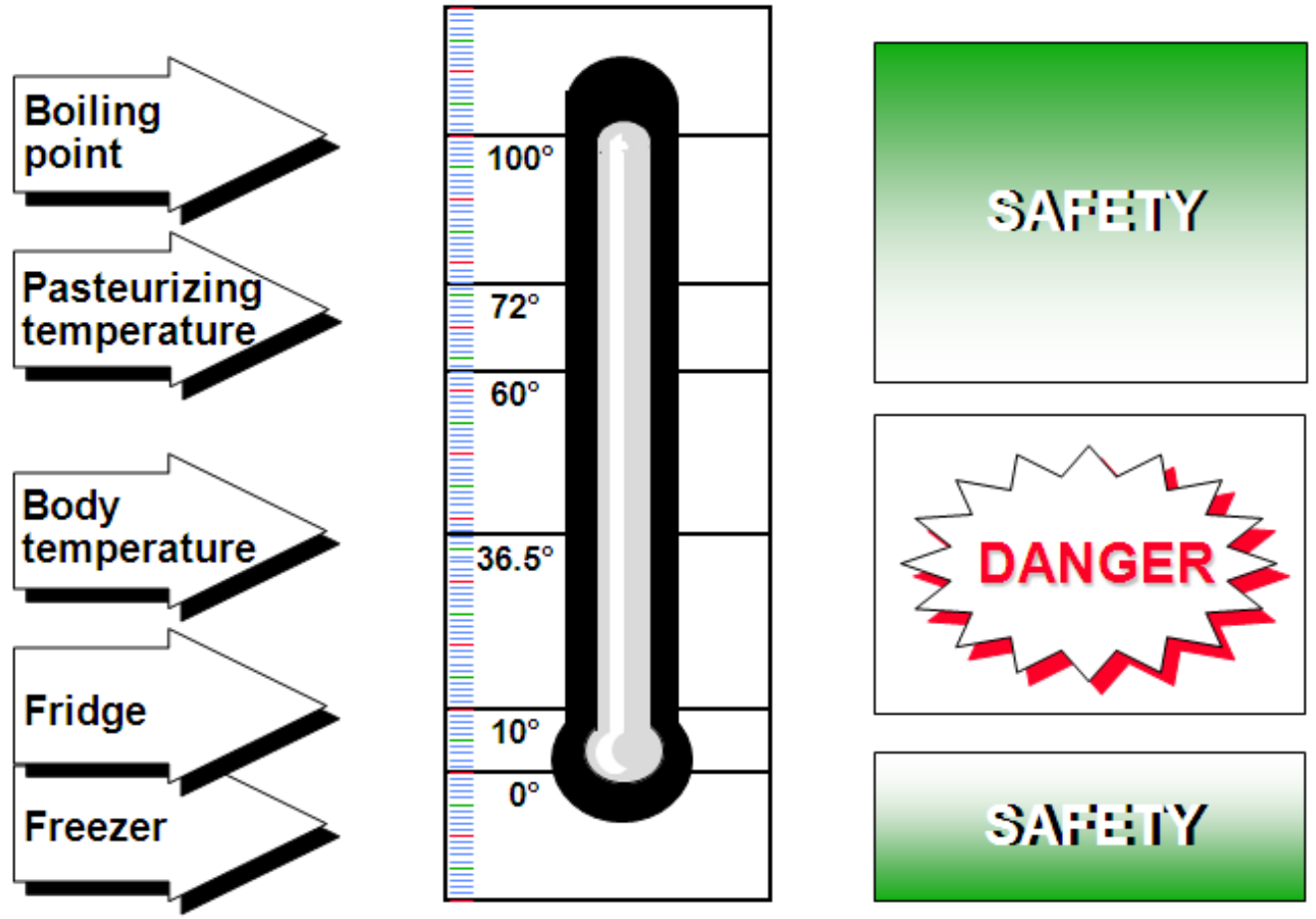
	Temperature°C		
	Min.	Opt.	Max.
Salmonella	5	35 - 37	47
Campylobacter	30	42	47
E. coli	10	37	48
S. aureus	6.5	37 - 40	48
C. botulinum (proteolytic)	10		50
C. botulinum (non-proteolytic)	3.3		25 - 37
B. cereus	4	30 - 35	48 - 50[1] 43[2]

[1] = Mesophilic
[2] = Psychrotrophic

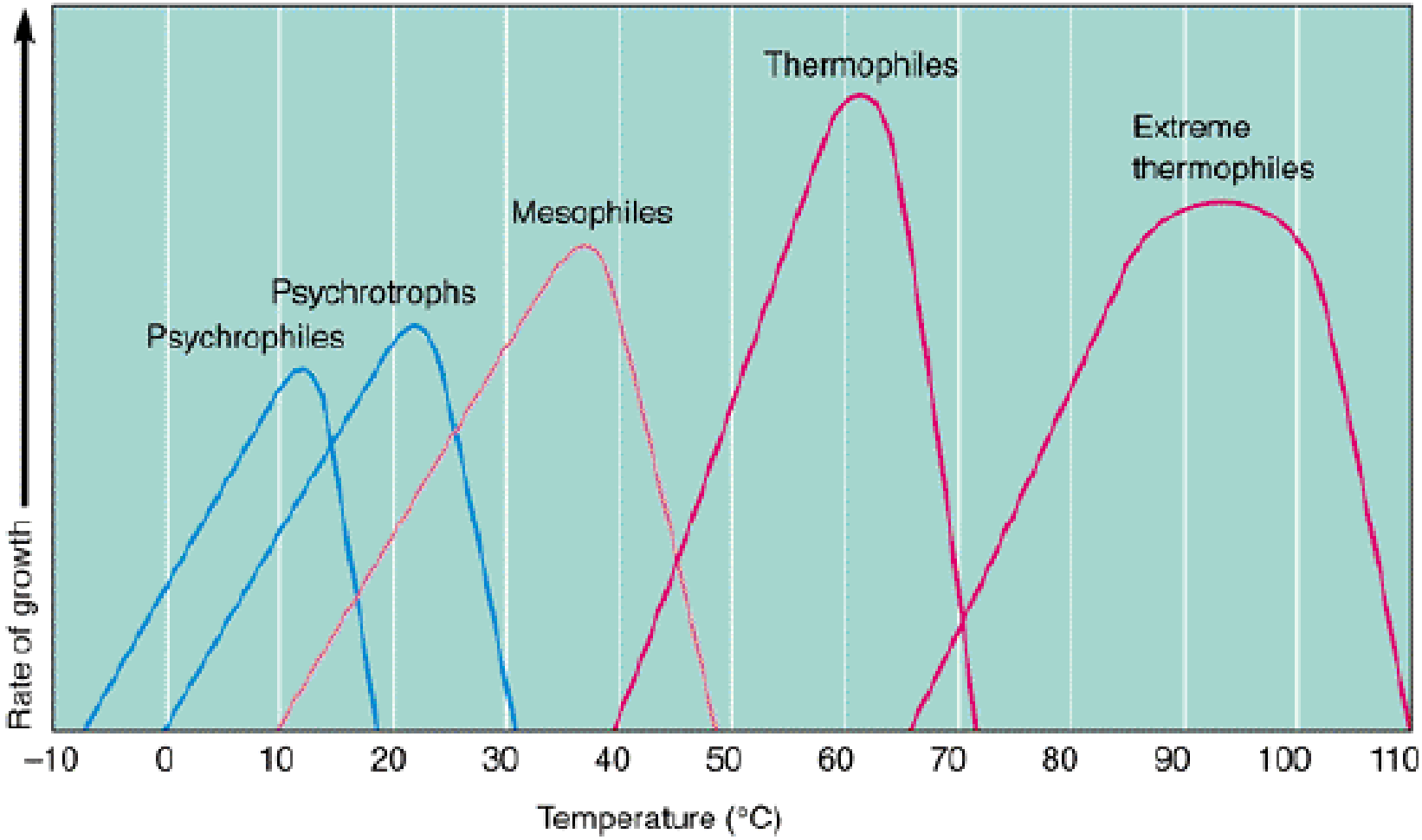
Growth of *S. typhimurium* at different temperatures



Prevention of foodborne disease



Pertumbuhan Bakteri pada Suhu Berbeda



Temperature range for growth of toxigenic mould species

	Min. °C	Opt. °C	Max. °C
Penicillium verrucosum	0	20	31
Aspergillus ochraceus	8	28	37
Aspergillus flavus	10	32	42
(aflatoxin formation)	12	25	37
Fusarium moniliforme	3	25	37

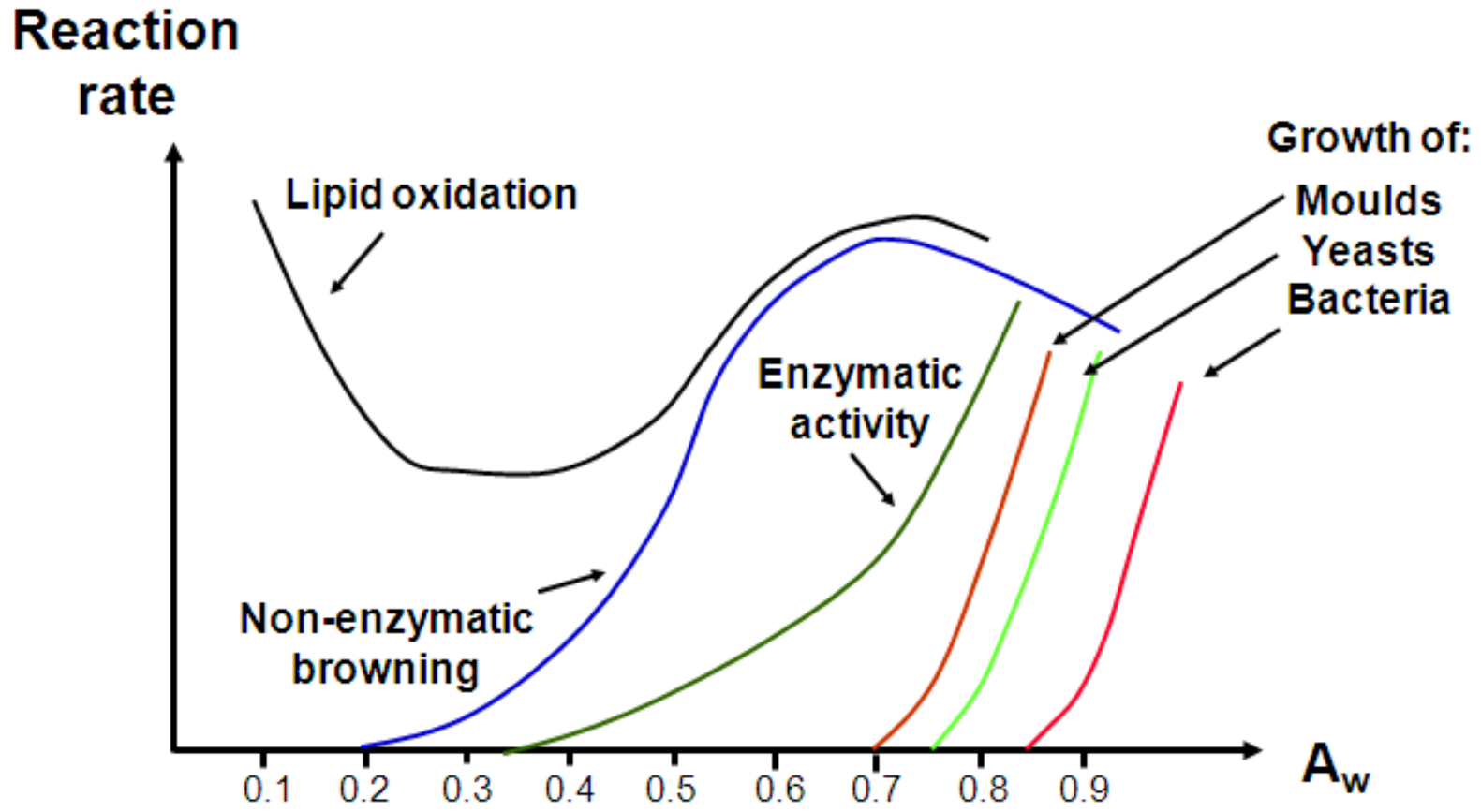
Water activity (definition)

a_w is the ratio of water vapour pressure of food (p) to that of pure water (p_o) at the same temperature.

$$a_w = p / p_o$$

$$0 < a_w < 1$$

Water activity



Minimum levels of a_w permitting growth (at near optimum temperatures)

Moulds	*Aspergillus chevalieri*	0.71
	Aspergillus ochraceus	0.78
	Aspergillus flavus	0.80
	Penicillium verrucosum	0.79
	Fusarium moniliforme	0.87
Yeasts	*Saccharomyces rouxii*	0.62
	Saccharomyces cerevisiae	0.90
Bacteria	*Bacillus cereus*	0.92
	Clostridium botulinum (proteolytic)	0.93
	Clostridium botulinum (non-proteolytic)	0.97
	Escherichia coli	0.93
	Salmonella	0.95
	Staphylococcus aureus	0.83

Range of a_w in foods and their microbial flora

a_w range	Foods	Microbial flora
> 0.98	Fresh meats Fresh fish Fresh fruits Fresh vegetables Canned vegetables in brine	*(C. perfringens, Salmonella)*
	Canned fruit in light syrup (<3.5 % salt, 26% sugar)	*(Pseudomonas)*
0.93 - 0.98	Fermented sausages Processed cheese Bread Evaporated milk Tomato paste (10% salt, 50% sugar)	*(B. cereus, C. botulinum, Salmonella)* lactobacilli, bacilli and micrococci

Water activity

a_w can be reduced by :

- Removing water (drying)
- Decreasing availability of water by crystalization (freezing)
- Decreasing availability by binding water with water binding agents e.g. salt, sugar

Redox (E_h)

E_h (mV)

low / negative: reducing medium

high / positive: oxidizing medium

$E_h = E_o + RT / nF \,.\, (oxidant) \,.\, H+ / (reductant)$

Redox and bacterial growth

Obligate or strict aerobes:

positive E_h

Obligate anaerobes:

negative or low E_h

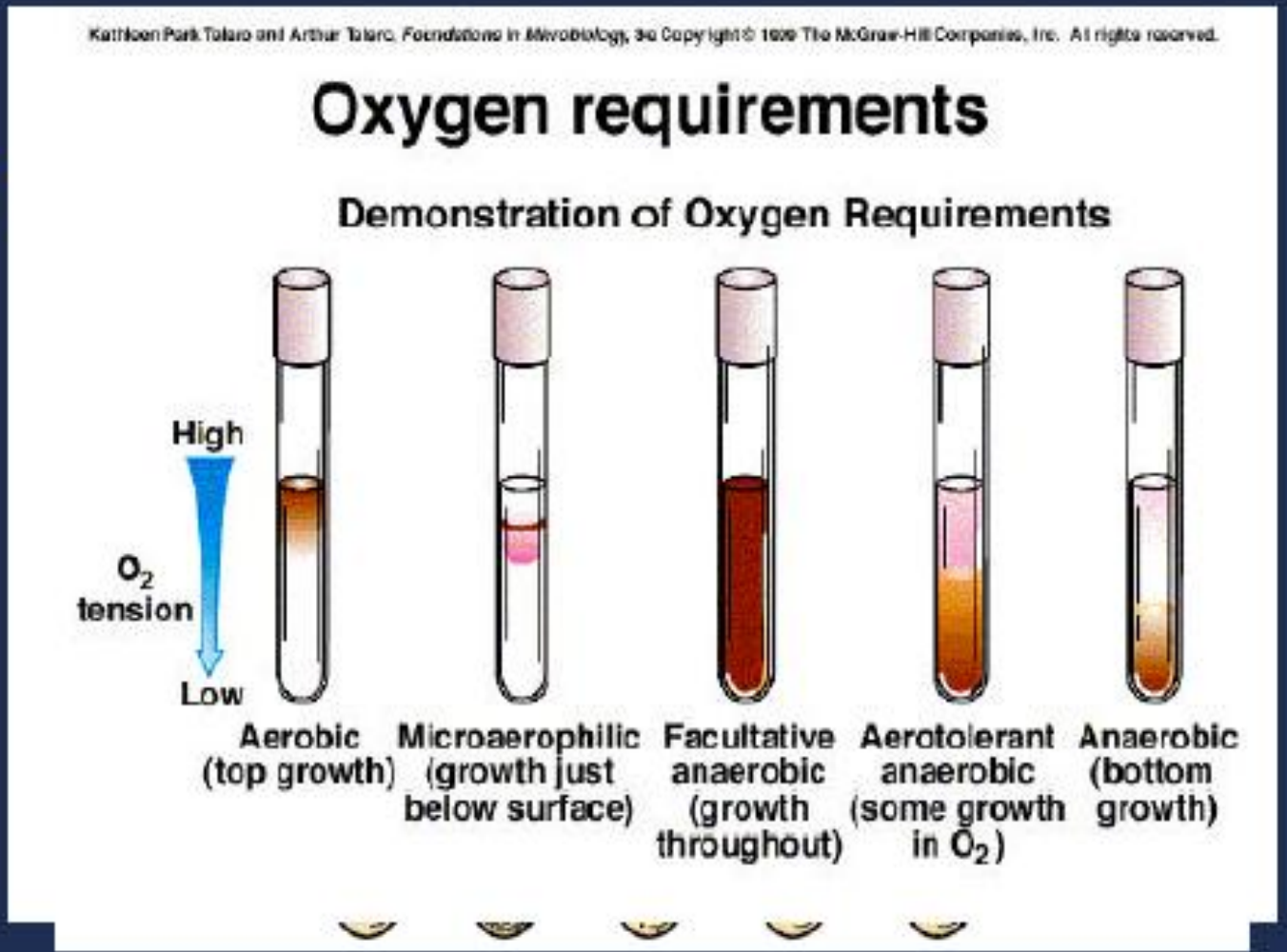
Redox

E_h depends on :

- availability of oxygen
- ratio of oxidant and reductant
- pH
- poising capacity
- microbial activity

Oksigen dan Pertumbuhan Bakteri

Thioglycolate is a good reducing agent



aerobic anaerobic facultative microaerophilic aerotolerant

E_h & pH values of foods

	E (mV)	*pH*
Raw meat	-200	5.7
Raw minced meat	+225	5.9
Cooked sausages and canned meats	-20 to -150	6.5
Wheat (whole grain)	-320 to -360	6
Barley (ground grain)	-225	7.0
Potato tuber	-150	6.0
Spinach	+74	6.2
Pear	+436	4.2

Control of E_h

- Vacuum packaging
- Modified atmosphere packaging by gas flushing: CO_2 , N_2

Antimicrobial activity

Depends on :

- **pH**
- **lipid**
- **microorganism**

Antimicrobial agents

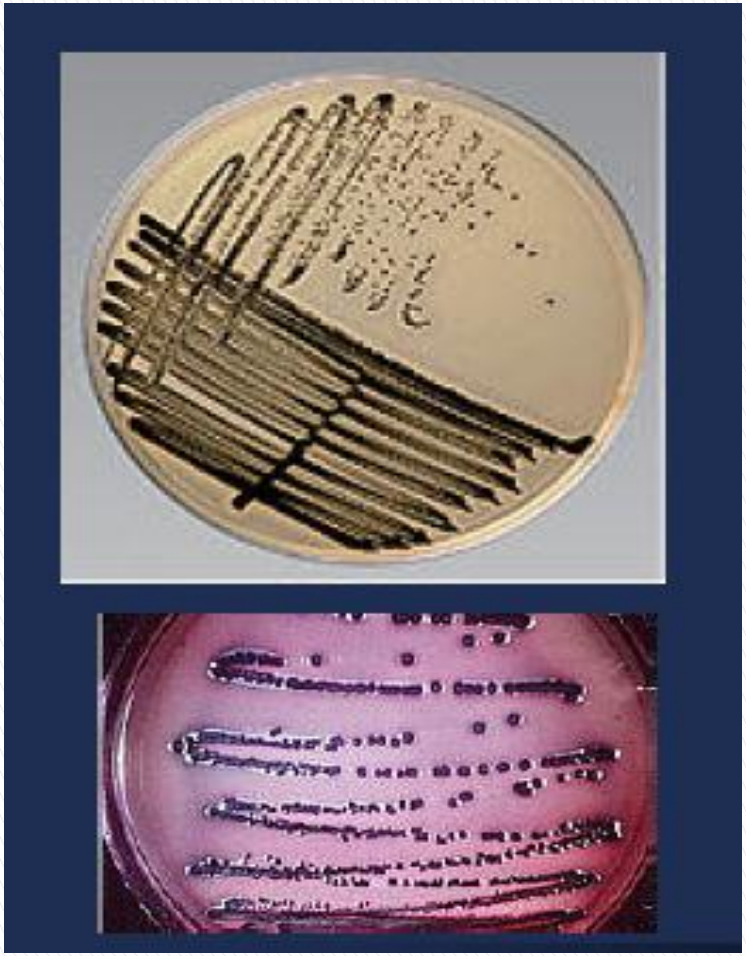
- Curing salts e.g. nitrites
- Bacteriocins e.g. nisin
- Gas: e.g. CO_2
- Organic acids / salts e.g. benzoic, sorbic and propionic acid

Media Pertumbuhan (Medium)

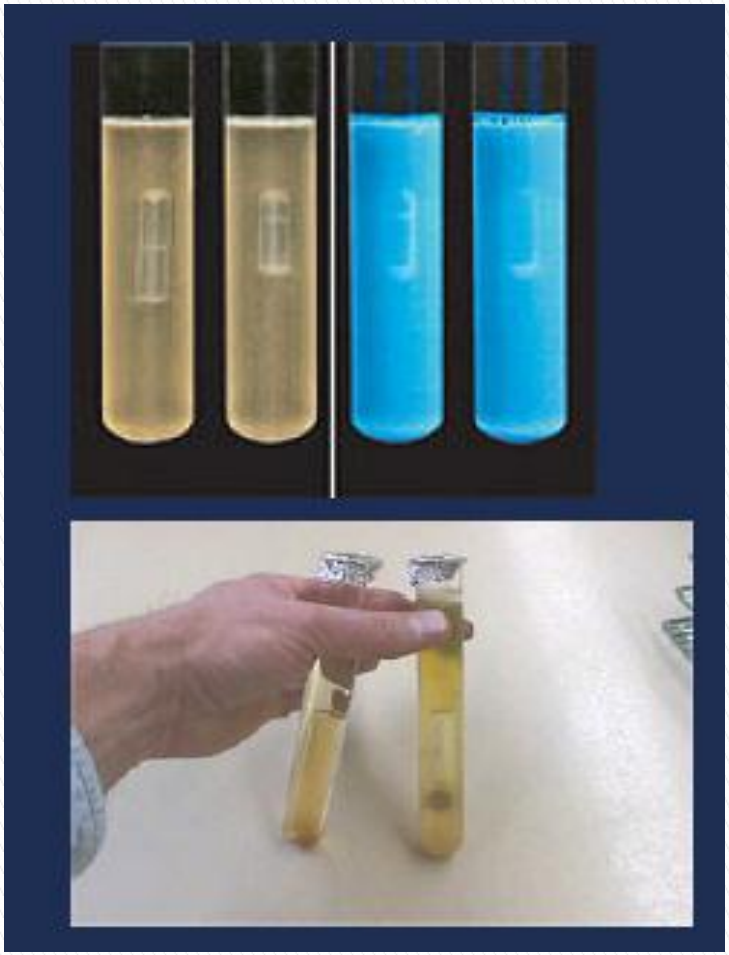
- Bahan bernutrisi yang disiapkan untuk menumbuhkan mikroorganisme di laboratorium

- Harus steril
- Kaya sumber karbon
- Kaya sumber nutrisi lain, seperti asam amino, mineral, vitamin dlsb
- Kondisinya memungkinkan untuk pertumbuhan dengan ketersediaan O_2, pH, suhu dan kelembaban
- Untuk media agar ditambahkan bahan pemadat (agar agar dari ganggang laut)

- Media Padat (*Agar*)



- Media Cair (*Broth*)



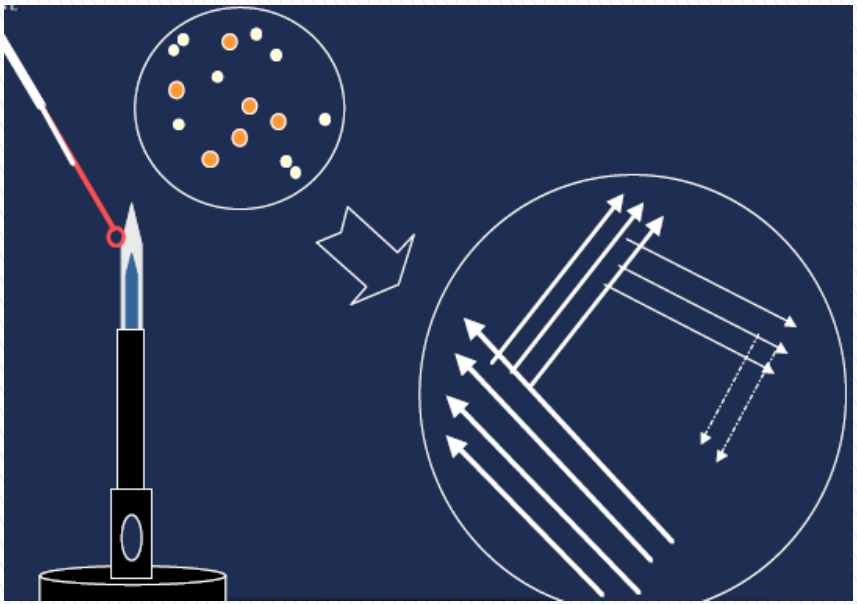
Chemically defined media

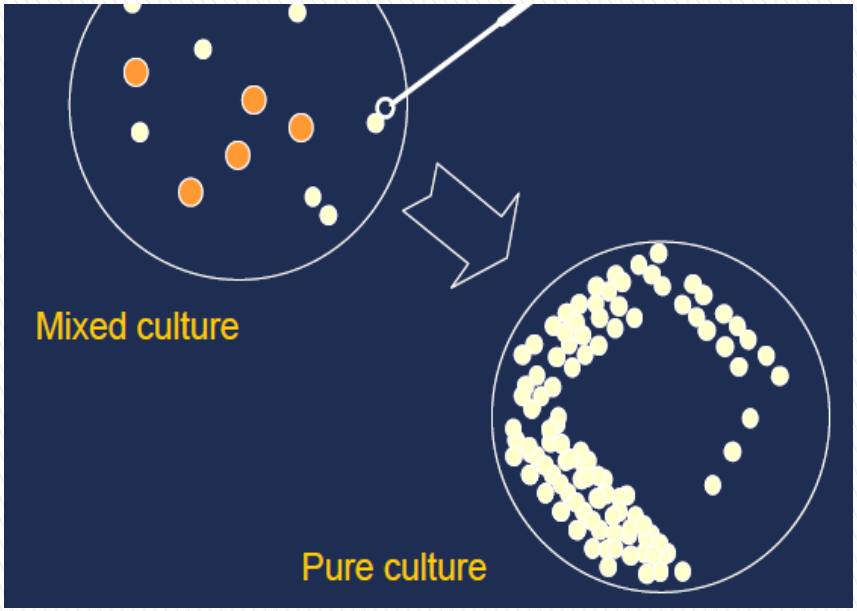
- Media pertumbuhan yang komposisi kimia bahannya diketahui
- Sumber energi dan karbon (glukosa dll)
- Juga mengandung sumber vit, asam amino, dll
- Relatif mahal

Undefined (complex) media

- Komposisi (proksimat) dari nutrisi tidak diketahui dan berbeda dari satu bahan dengan bahan lain
- Sumber energi, karbon, nitrogen dan sulfur diperoleh dari ekstrak protein (pepton)
- Vitamin dan faktor pertumbuhan orgaik dari ekstrak daging dan yeast extract

Inokulasi untuk Koloni Tunggal





Media Pertumbuhan Selektif

- Dimaksudkan untuk memacu pertumbuhan mikrobia yang dikehendaki dan menghambat mikrobia yang tidak dikehendaki
- Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC): antibiotik yang menghambat pertumbuhan bakteri. Cocok untuk isolasi Fungi
- Brilliant Green Agar: Senyawa kimia cat Green menghambat bakteri Gram (+). Cocok untuk isolasi bakteri Gram (-)
- Bismut Sulfite Agar: Cocok untuk isolasi Salmonella typhi, menghambat bakteri lain

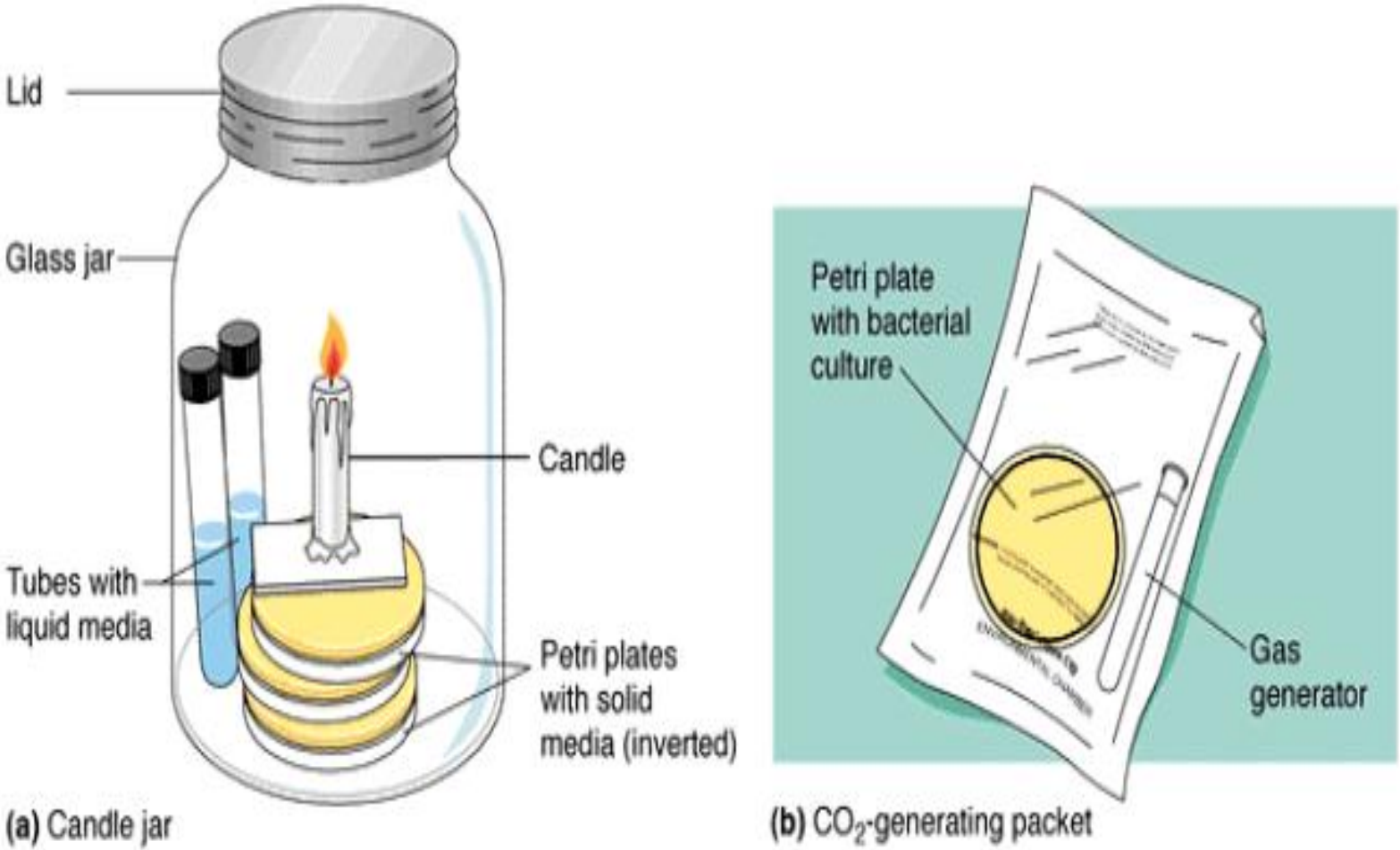
Differential Media

- Coliform pada media Lauryl Tryptone Broth pada suhu 30^{o}C mampu menghasilkan gas, sedangkan non-Coliform tidak tumbuh atau tumbuh tapi tidak menghasilkan gas

- Baird Parker Agar: untuk membedakan *Staphylococcus aureus*

- Egg Yolk: *S. aureus* mampu memecah egg yolk dan menberikan zona bening sekitar koloni

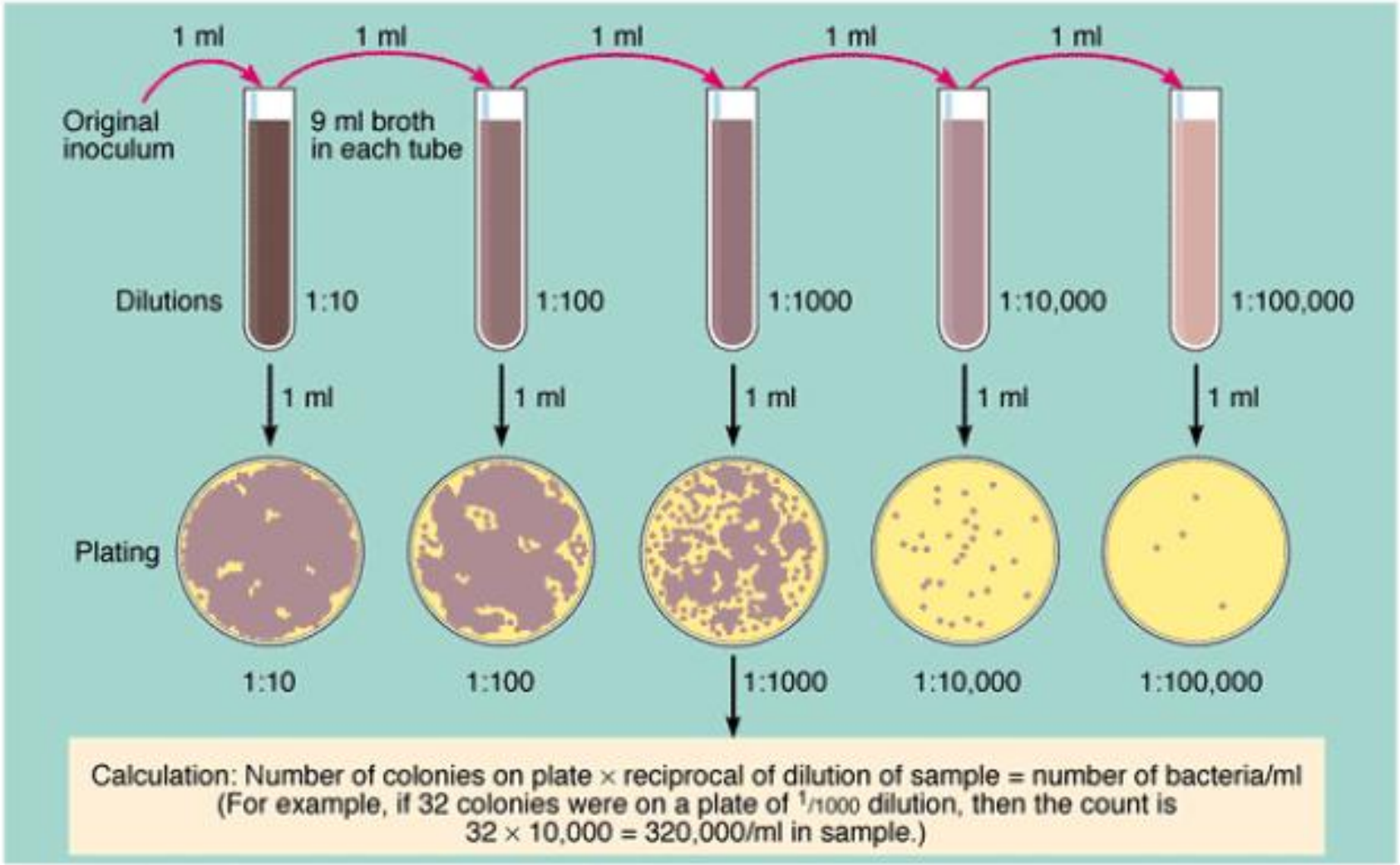
Medium untuk Anaerob (CO_2)



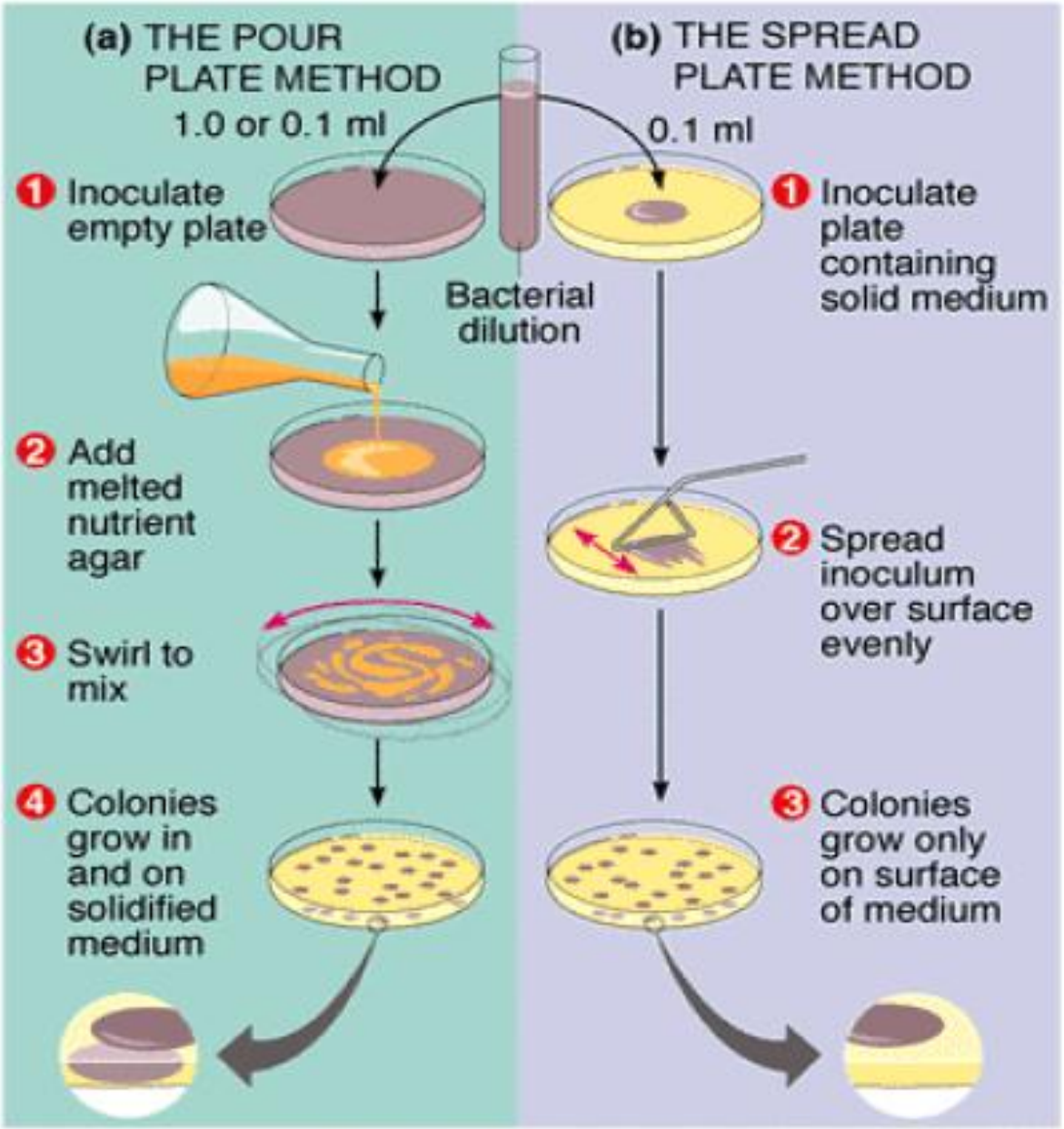
Standard Plate Count (SPC)

- Digunakan untuk menghitung jumlah mikrobia menggunakan media Plate Count Agar (PCA)
- Inokulasi sampel dan hitung jumlah mikrobia dengan asumsi: (1) satu koloni berasal dari satu sel dan (2) inokulum homogen
- Menghitung jumlah sel hidup (viable cells)
- Perlu waktu lama (24 – 48 jam), jumlah koloni terhitung antara 30 – 300 koloni, dan perlu pengenceran

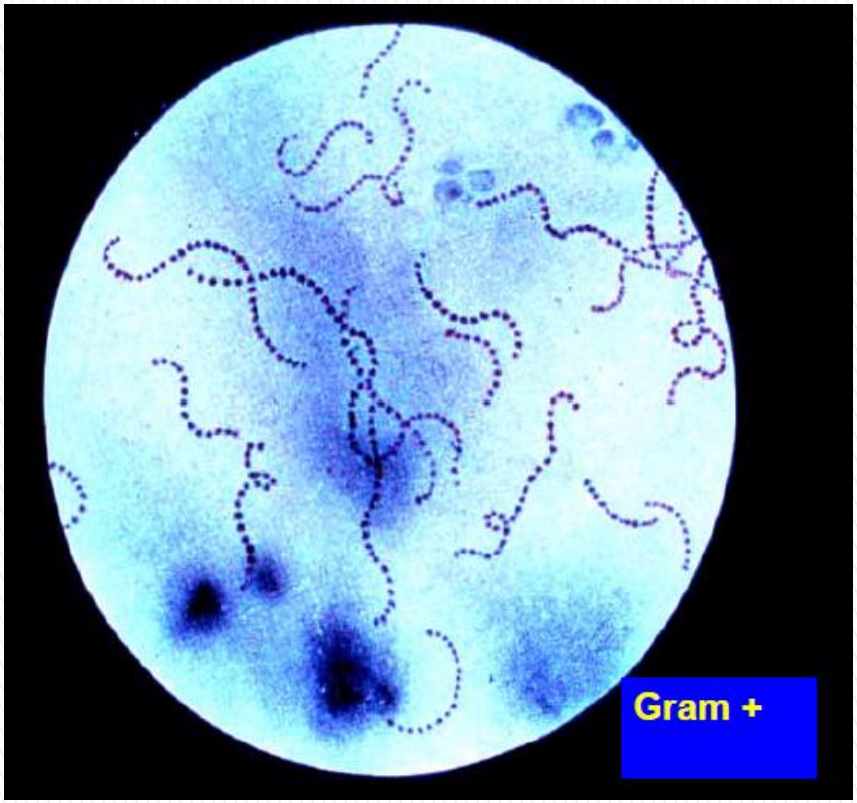
Seri Pengenceran untuk SPC

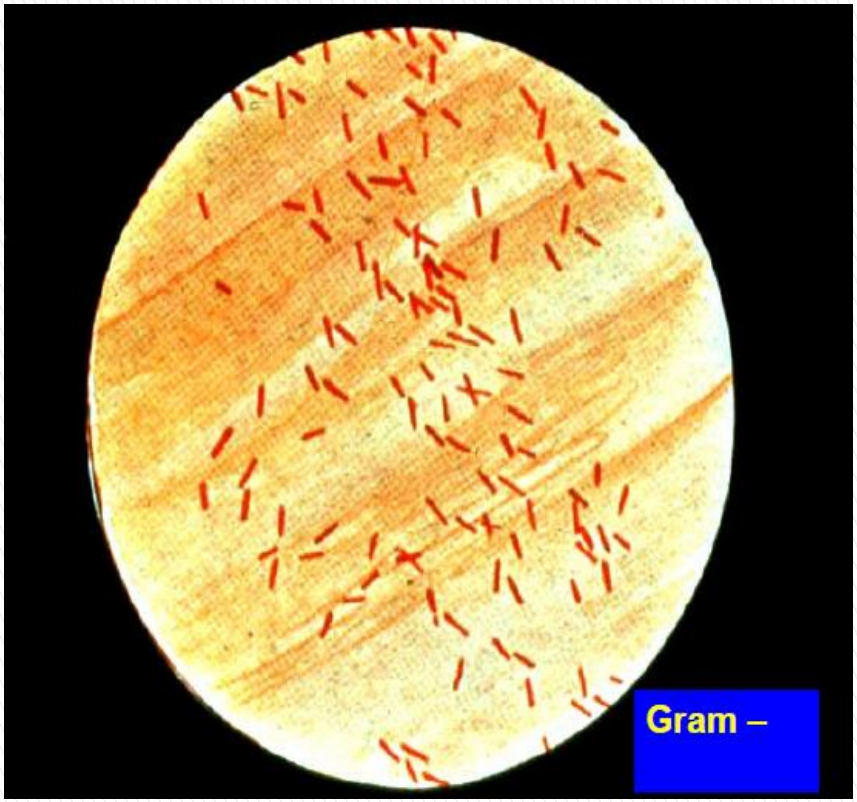


Pour Plate atau *Spread Plate*



Pengecatan Gram





Penumbuhan Bakteri (Skala Lab)

1. *Enrichment* (pengkayaan): proses penumbuhan dalam medium kaya nutrisi (lengkap) dengan maksud mempercepat pertumbuhan

1. *Isolation* (isolasi): proses pemisahan satu spesies dari populasi mikroorganisme pada sumber alami-nya

1. *Identification* (identifikasi): proses identifikasi untuk memisahkan dari mikrobia lainnya menggunakan penanda khusus

1. *Enumeration* (penghitungan): penghitungan jumlah mikrobia

1. *Produk Formation*: memanen hasil metabolisme mikrobia yang dimaksud; bisa metabolit primer atau sekunder