

DAYA BAKTERISIDA RIMPANG BEBERAPA JENIS CURCUMA YANG DIIRADIASI NETRON CEPAT TERHADAP BAKTERI PENGUJI ESCHERICIA COLI DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Rosmiarty A. Wahid

Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

ABSTRAK

DAYA BAKTERISIDA RIMPANG BEBERAPA JENIS CURCUMA YANG DIIRADIASI NETRON CEPAT TERHADAP BAKTERI PENGUJI ESCHERICIA COLI DAN STAPHYLOCOCCUS AUREUS. Rimpang dari *C.xanthorhiza*, *C.domestica* dan *C.zedoaria* diiradiasi dengan neutron cepat dari USIF reaktor Triga-Mark II Bandung dosis 5 Gy, 10 Gy dan 30 Gy. Daya bakterisida dari filtrat rimpang diuji dengan cara bioesai dengan bakteri *E.coli* dan *S.aureus* sebagai bioindikator. Dengan metode penghitungan oleh B.Arret dkk. (1971) yang telah dimodifikasi (R.A.Wahid, 1994) untuk teknik difusi agar dan dilusi agar, ternyata efek radiasi terhadap rimpang Curcuma ini dapat diamati [2,9]. Dari daya hambat relatif filtrat terhadap pertumbuhan kedua bakteri penguji semua jenis Curcuma, yang diiradiasi terutama dosis penyinaran 5 Gy dan 10 Gy meningkat daya bakterisidanya dibandingkan dengan yang tanpa perlakuan.

ABSTRACT

THE ANTIMICROBIAL POTENCY OF FAST NEUTRON IRRADIATED CURCUMA RHYZOMES ON THE TESTED BACTERIAL OF ESCHERICHIA COLI AND STAPHYLOCOCCUS AUREUS. Some rhizomes of *C.xanthorhyza*, *C.domestica* and *C.zedoaria* were irradiated by use of 5 Gy, 10 Gy and 30 Gy fast neutron doses from USIF of TRIGA MARK II Reactor. The potency of antimicrobial substance (bactericidal) of its have been selected by the bioassay methods of *E.coli* and *S.aureus* as bioindicator respectively. However, the fast neutron irradiation effect to all of Curcuma rhizomes have been detected by employing both of the diffusion and dilution calculation methods, modified (R.A.Wahid, 1994) as been described by B.Arret et.all (1971), [2,9]. The increasing of antimicrobial potency from 5 Gy and 10 Gy of irradiated rhizomes were identified after counted the relative inhibition effect of Curcuma substances to both of the tested bacterial growth.

PENDAHULUAN

Telah banyak penelitian yang dilakukan untuk mempelajari efek biologi dari iradiasi sinar pengion terhadap organisme hidup [1]. Beberapa bentuk efek radiasi terhadap molekul-molekul penting pada sel atau jaringan yaitu menimbulkan perubahan yang bersifat sementara ataupun perubahan yang bersifat menetap pada sistem biologi.

Perubahan pada metabolit sekunder yang dihasilkan oleh sel tanaman telah banyak diteliti. Dosis rendah iradiasi yang diberikan cenderung merangsang produksi metabolit sekunder, sedangkan dosis yang cukup tinggi akan menyebabkan tidak dihasilkannya beberapa komponen metabolit oleh sel. Beberapa teori mengatakan bahwa penyinaran dengan dosis tinggi (di atas 3000 Rad) akan menyebabkan perubahan yang besar dalam sistem membran pada sel tanaman, hal mana sangat mempen-
ruhi produksi metabolit yang akan dihasilkan oleh sel [1,8].

Salah satu di antara sekian banyak tanaman penghasil metabolit sekunder yang dikenal dari kelompok tanaman obat-obatan tradisional di Indonesia adalah dari jenis *Curcuma* [3,7]. Pada penelitian ini spesies yang diteliti adalah *C.xanthorhyza* (temu lawak), *C.domestica* (kunir) dan *C.zedoaria* (temu putih). Semua tanaman obat ini mempunyai potensi dalam menyembuhkan penyakit infeksi, sebagai anti septik, pada pengobatan penyakit infeksi perut, di samping khasiat lainnya yang spesifik untuk setiap tanaman obat ini.

Banyak metode yang telah digunakan para peneliti untuk mengetahui potensi suatu jenis obat dan cara menganalisis suatu bahan obat untuk mengetahui kemampuannya. Cara analisis dengan menggunakan jasad

hayati sebagai penguji dikenal sebagai cara bioesei, yaitu menggunakan bakteri sebagai penguji. Metode bioesei yang lazim dipakai adalah dengan cara difusi-agar, turbidimetri dan cara dilusi-agar (Arret, B., et.al. 1986) [2].

Pada penelitian ini, dengan menggunakan radiasi dosis rendah dari neutron cepat akan diamati efek radiasi terhadap perubahan daya bakterisida rimpang *C.xanthorhyza*, *C.domestica* dan *C.zedoaria* terhadap bakteri penguji, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

BAHAN DAN TATA KERJA

Radiasi dengan sinar neutron cepat dari USIF di Reaktor Triga Mark II dilakukan menggunakan dosis rendah, 5 Gy, 10 Gy dan 30 Gy pada laju dosis 2,43 Rad/detik pada daya 500 kW.

Rimpang *Curcuma* yang dipergunakan untuk pengujian adalah kelompok rimpang dari panen langsung setelah diiradiasi (rim pang tua; kelompok A) dan kelompok rimpang yang ditanamkan kembali setelah diiradiasi hingga tumbuh tunas baru, yaitu berumur satu bulan setelah iradiasi (rim pang muda; kelompok B). *Curcuma* yang dipergunakan dalam penelitian ini berasal dari Balai Penelitian Tanaman Obat-obatan Tropis (BALITRO) Bogor.

Kuman *Staphylococcus aureus strain B.90* dan *Escherichia coli strain B.87* yang dipergunakan merupakan strain bakteri penguji berasal dari Laboratorium Mikrobiologi ITB.

Filtrat rimpang *C.xanthorhyza*, *C.domestica* dan *C.zedoaria* yang telah diiradiasi dengan neutron cepat dan yang tidak diiradiasi dari kelompok A dan B disentrifuga dengan kecepatan 4000 rpm., kemudian disterilkan selama 10 menit pada suhu 120 °C dan disiapkan untuk dicampur atau ditanamkan pada medium nutrisi-agar (NA). Kepekatan filtrat yang digunakan sebagai standar adalah 1/10 dari volume asal [9].

Media pertumbuhan bakteri adalah media Boullion Agar, terdiri dari 3 gram ekstrak daging, 5 gram NaCl, 5 gram pepton dan 15 gram agar dalam satu liter medium. Untuk pengujian digunakan sebanyak 10 ml dan 5 ml medium pada cawan petri dan tabung reaksi.

Pada metode difusi-agar, sebanyak 1 ml. suspensi bakteri dengan konsentrasi 5×10^6 bakteri per ml suspensi yang telah diukur secara turbidimetri dengan spektrofotometer dalam panjang gelombang λ 580 nm, dioleskan rata pada medium NA di cawan petri dalam kondisi

ateril. Kertas cakram Whatman no.1 diameter 4 mm ditotesi 20 μ l filtrat rimpang dari setiap perlakuan radiasi dan kontrol pada campuran medium NA, dengan bakteri penguji. Setelah diinkubasi selama 24 jam, diamati diameter hambat terhadap pertumbuhan bakteri, dan ditentukan daya hambat bakterisida dari setiap cuplikan pengamatan. Untuk mengukur daya hambat pertumbuhan bakteri adalah dengan menghitung luas hambatan pertumbuhan rata-rata bakteri penguji [2,6,9].

Pada metode dilusi-agar, sebanyak 10 ml. medium NA, ditambahkan filtrat masing-masing rimpang perlakuan radiasi dan kontrol pada konsentrasi 5 %, yaitu setengah dari kepekatan standar dalam keadaan aseptik di Laminar Air-flow [9]. Setelah campuran membeku pada cawan petri, diinokulasi secara gores dengan konsentrasi yang sama dengan cara terdahulu. Setelah diinkubasi selama 24 jam, diamati daya tumbuh bakteri pada setiap perlakuan, yaitu dengan menghitung luas area pertumbuhan rata-rata pada media NA yang dicampur filtrat, dibagi dengan luas area pertumbuhan rata-rata pada media NA tanpa filtrat.

Daya hambat dan daya tumbuh relatif dihitung dari perbandingan dengan kontrol dan ditentukan dalam persen (%) (9). Kedua metode yang dilakukan adalah modifikasi dari cara pengujian zat antimikroba menurut Sam Franckel (1970) dan B.Arret (1971) [2,6]. Pengulangan dilakukan 5 kali dan sebagai pembandingan selalu disertai pengamatan tanpa pemberian filtrat pada media kultur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Cara penentuan suatu zat anti bakteri terdiri atas berbagai metode [5], akan tetapi yang dilakukan pada penelitian ini hanya dua cara yang sering dipergunakan dalam bioesei, yaitu cara difusi-agar (Disc Diffusion Method) dan cara dilusi-agar (Agar Dilution Method) [5,9].

Hasil yang diamati pada penelitian ini berasal dari pengamatan pada koloni bakteri *S.aureus strain B.90* dan *E.coli strain B.87* dalam perkiraan jumlah sel 5×10^6 bakteri per ml. suspensi dan kepekatan filtrat 1/10 dari volume asal [3]. Perlakuan pemanasan sampai 120 °C selama 10 menit terhadap filtrat masih memberikan hasil daya anti bakteri yang memadai [9].

Dari hasil pengamatan terhadap daya hambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* ternyata dari pengujian dengan cara difusi agar maupun cara dilusi agar, sebagian

besar dosis penyinaran neutron cepat terhadap rimpang menunjukkan kecenderungan mempunyai potensi untuk meningkatkan daya bakterisida pada ketiga jenis *Curcuma*. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Penggunaan dosis rendah 5 Gy dan 10 Gy terhadap rimpang *C.xanthorrhiza* untuk kelompok pengamatan rimpang tua (A) dan rimpang muda (B) pada pengujian cara difusi-agar menunjukkan hasil daya hambat pertumbuhan bakteri yang lebih tinggi dibanding kontrol (Tabel 1).

terhadap *S.aureus*, yaitu antara 93% hingga 110% dibanding kontrol. Berbeda dengan daya hambat terhadap *E.coli* yang sangat menonjol pada dosis rendah 5 Gy pada rimpang tua (A) ataupun rimpang muda (B). Sedangkan penggunaan dosis tinggi 30 Gy pada *C.domestica* ini telah menyebabkan kerusakan langsung setelah iradiasi dilakukan.

Pada *C.zedoaria* peningkatan daya bakterisida bervariasi terhadap rimpang dan dosis radiasi rendah 5 Gy hingga dosis tinggi 30 Gy. Kerusakan tertunda akibat radiasi neutron cepat

Tabel 1. Daya hambat pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* oleh filtrat rimpang *C.xanthorrhiza*, *C.domestica* dan *C.zedoaria* yang diiradiasi neutron cepat pengujian secara difusi-agar.

Kelompok/ mikroba uji	Daya hambat relatif (%)								
	<i>C. xanthorrhiza</i>			<i>C. domestica</i>			<i>C. zedoaria</i>		
	5 Gy	10 Gy	30 Gy	5 Gy	10 Gy	30 Gy	5 Gy	10 Gy	30 Gy
A <i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	109	107	104	96	110	100	169	151	149
	148	155	139	167	114	63	108	108	161
B <i>S. aureus</i> <i>E. coli</i>	174	128	148	93	108	98	99	176	100
	133	109	48	154	107	57	76	105	100

Kecuali hasil daya hambat terhadap *E.coli* dari rimpang muda (B) yang diiradiasi dengan dosis 30 Gy ternyata lebih rendah (48%). Daya hambat rimpang tua dan muda terhadap *E.coli* dan *S.aureus* bervariasi namun sama menunjukkan peningkatan pada dosis 5 Gy dan 10 Gy. Pada rimpang tua (A), daya hambat terhadap *E.coli* cukup tinggi untuk semua dosis iradiasi dibandingkan kontrol yaitu 1,48; 1,55 dan 1,39 kali lebih besar. Hasil daya hambat dari rimpang muda (B) yang paling tinggi adalah terhadap *E.coli* perlakuan dosis 5 Gy, sedangkan daya hambat paling rendah adalah dosis tinggi 30 Gy. Hal ini menunjukkan adanya indikasi kerusakan tertunda (late effect) akibat iradiasi dosis 30 Gy terhadap sel penghasil metabolit sekunder yang bersifat anti bakterisida *E.coli*. Hal ini dapat disimpulkan demikian karena analisis untuk rimpang muda (B) dilakukan 30 hari setelah iradiasi diberikan.

Hasil pengamatan terhadap rimpang tua dan muda dari *C.domestica* untuk semua dosis iradiasi tidak menunjukkan efek bakterisida

dapat terlihat lebih jelas pada jenis *Curcuma* ini, karena berlangsung pada daya hambat terhadap *S.aureus* maupun *E.coli*. Yaitu untuk *S.aureus* 1,69 hingga 1,49 kali dibanding kontrol pada pengamatan langsung setelah radiasi (kelompok A), menjadi 0,99 hingga 1,26 pada pengujian 30 hari setelah radiasi dilakukan (kelompok B).

Dari pengujian secara dilusi-agar pengamatan dilakukan terhadap daya pertumbuhan kedua bakteri pengujian (Tabel 2). Hasil yang didapatkan sebagian dapat menunjang hasil daya bakterisida rimpang radiasi yang ditunjukkan metode difusi-agar pada penghambatan pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* dibandingkan dengan tanpa perlakuan radiasi (kontrol) dari rimpang A dan rimpang B. Hal ini terlihat dari hasil pengujian kedua bakteri pada perlakuan iradiasi terhadap *C.xanthorrhiza* dan pada *C.domestica*. Sedangkan daya bakterisida *C.zedoaria* memberikan hasil yang hampir sama polanya terutama pada pengujian terhadap *E.coli* pada filtrat rimpang A.

Tabel 2. Pertumbuhan *S.aureus* dan *E.coli* dalam media NA yang mengandung filtrat *C.xanthorrhiza*, *C.domestica* dan *C.zedoaria* dari rimpang yang diiradiasi neutron cepat cara dilusi-agar.

Kelompok/ mikroba uji	Daya hambat relatif (%)								
	<i>C. xanthorrhiza</i>			<i>C. domestica</i>			<i>C. zedoaria</i>		
	5 Gy	10 Gy	30 Gy	5 Gy	10 Gy	30 Gy	5 Gy	10 Gy	30 Gy
A									
<i>S. aureus</i>	103	153	95	77	97	84	126	148	106
<i>E. coli</i>	97	90	86	70	65	63	94	73	106
B									
<i>S. aureus</i>	80	74	84	90	121	114	102	68	72
<i>E. coli</i>	95	73	81	130	120	122	103	88	91

Metode dilusi-agar dilakukan dalam penelitian ini dengan tujuan dapat memperjelas informasi yang didapatkan sebelumnya dengan metode difusi-agar. Beberapa hasil yang mendukung dapat dilihat dari hasil pengujian filtrat *C.xanthorrhiza* dengan *S.aureus*, dimana pertumbuhan bakteri belum terhambat oleh iradiasi yang diberikan pada pengamatan kelompok A (langsung setelah iradiasi), akan tetapi terhambat setelah 30 hari iradiasi diberikan (kelompok B). Sedangkan daya hambat terhadap *E.coli* pada dosis 30 Gy lebih diperjelas dengan angka pengamatan pertumbuhan relatif yang lebih rendah dibandingkan kontrol.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa daya anti bakteri terhadap *S.aureus* dan *E.coli* dari ketiga filtrat *Curcuma* dari pengujian secara difusi-agar dan dilusi-agar pada radiasi rendah lebih terangsang dibandingkan kontrol, terutama pada *C.xanthorrhiza* dan *C.domestica*.

Untuk *C.domestica* terlihat pola daya hambat yang spesifik terhadap *E.coli* dari filtrat rimpang kelompok B, yaitu rimpang muda yang berasal dari tunas baru berumur 1 bulan pasca iradiasi. Peningkatan daya anti bakteri terhadap *E.coli* di sini bersifat lebih mantap dibanding pada *Curcuma* lain.

Peningkatan daya bakterisida pada *C.zedoaria* lebih tinggi pada rimpang A, yaitu rimpang yang tua yaitu hasil panen langsung (yang biasa dikonsumsi). Akan tetapi tidak spesifik untuk dosis rendah yang digunakan, dan pemunculannya tidak tetap terhadap kedua jenis bakteri penguji.

Dari hasil penelitian dengan teknik bioesesi ini ternyata dapat diungkapkan efek positif dari penggunaan iradiasi dosis rendah dan sedang untuk menampilkan reaksi bakterisida dari kandungan pada sel atau jaringan *Curcuma*. Hal mana merupakan suatu peluang yang baik bagi usaha peningkatan kandungan metabolit sekunder dengan penggunaan teknik nuklir bila diiringi dengan seleksi dan pembiakan sel secara teknik kultur sel yang tepat [1,8].

Hasil pengamatan pada semua pengujian kedua metode menunjukkan kecenderungan penggunaan dosis rendah 5 Gy dan 10 Gy lebih meningkatkan daya bakterisida, yaitu 35 dari 48 pengujian yang dilaksanakan. Akan tetapi masih dibutuhkan penyempurnaan metode pengujian agar dapat lebih mengungkapkan potensi iradiasi sebagai *tool* untuk meningkatkan daya bakterisida dari *Curcuma*.

Penelitian dengan kedua cara bioesesi ini belum sepenuhnya saling menopang hasil daya bakterisida yang diamati. Beberapa faktor yang mungkin berperan di sini seperti komposisi perbenihan bakteri, jumlah bakteri yang digunakan dan kelarutan zat anti bakteri yang berkaitan dengan koefisien difusi zat dalam media perbenihan [5]. Penelitian yang lebih cermat dalam bidang terkait di masa mendatang akan lebih menopang usaha penelitian secara bioesesi yang telah dilakukan ini.

KESIMPULAN

Dari hasil pengamatan dengan kedua metode pengujian dapat disimpulkan bahwa peng-

gunaan dosis rendah 5 Gy dan 10 Gy lebih meningkatkan daya bakterisida pada penelitian ini, yaitu 35 dari 48 pengujian yang dilaksanakan, terutama pada *C.xanthorrhiza* dan *C.domestica* dari rimpang tua (kelompok A) dan rimpang muda (kelompok B). Pada *C.zedoaria* terjadi kerusakan tertunda akibat radiasi dosis tinggi 30 Gy, dapat dilihat dari berkurangnya efek bakterisida terhadap *E.coli* maupun *S.aureus*.

Masih dibutuhkan penyempurnaan metode pengujian agar dapat lebih mengungkapkan potensi iradiasi sebagai *tool* untuk meningkatkan daya bakterisida dari *Curcuma* ini.

UCAPAN TERIMA KASIH

Disampaikan kepada Balai Penelitian Tanaman Tropis (BALITRO) dan Laboratorium Mikrobiologi ITB, atas bantuan dalam penyediaan bahan penelitian. Terutama untuk saudara E.Nurlina dari Jurusan Biologi ITB atas bantuan dalam pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonym, *In vitro* technology for mutation breeding, IAEA-TEC DOC-392, IAEA, Vienna (1986).
2. Arret, B., Johnson, D.D. and Kirschbourn, J., Outline of details for microbiological assays of antibiotics, 2nd. rev., *Jour.Pharm.Sci.*, 60 (1971) 1689-1694.
3. Atmawidjaya, S., Penetapan potensi antibiotika, Jurusan Farmasi FMIPA ITB, Bandung (1990).
4. Collard, P., *The Development of Microbiology*, Cambridge University Press., Cambridge (1976) 66-187.
5. David, M., Issacson and Joel Kirschbourn., *Assays of antimicrobial substances manual of industrial microbiology and biotechnology*, Amer. Soc. for Microbiology, Washington D.C. (1986) 410-431.
7. Perry, L.M., *Medicinal plant of east and shoutheast Asia* M.I.T.Press, Cambridge (1980).
6. Franckel, S., *Gradwhol's Clinical Laboratory Methods and Diagnopsis, A Textbook On Laboratory Procedure and Interpretation*, Seven Ed.St.Louis, The C.V. Mosby, Com.Part.IIV (1970) 1946.
8. Mantell,S.H., Mathews, Y.A., and Mc. Kee, R.A., *Principles of plant biotechnology, an introduction to genetic engeneering in plants*, Blck. Scient. Pub. Oxford, London (1985).
9. Wahid, R.A., *Penggunaan staphylococcus aureus dan Escherichia coli sebagai bioindikator efek bakterisida beberapa tanaman obat*, Loka Karya Nasional Mikrobiologi Lingkungan, Bogor (1994).

DISKUSI

Nanny Kartini K. :

1. Apakah dilakukan blangko dengan menggunakan rimpang yang telah diiradiasi ?
2. Kami melihat dalam makalahnya tidak ada kesimpulan, mohon diperhatikan untuk makalah yang akan dimasukkan ke dalam proceeding.

Rosmiarty A. Wahid :

1. Blangko selalu dilakukan pada kedua metode yang dilakukan (difusi-agar dan dilusi agar).
2. Pada hasil dan pembahasan selalu kami tulis diakhir tulisan kelompok bahasan yang bersifat sebagai kesimpulan.

Poppy Intan Tjahaya :

Dalam penelitian yang dilakukan *curcuma* diiradiasi dengan dosis 10 Gy, 20 Gy dan 30 Gy. Bagaimana pengaruh dosis iradiasi terhadap daya bakterisida untuk ke 3 jenis *curcuma* tersebut?

Dalam abstrak tercantum bahwa: untuk semua jenis *curcuma* daya bakterisidanya meningkat terutama pada yang diiradiasi dengan dosis 5 Gy dan 10 Gy, bagaimana dengan dosis 30 Gy.

Apakah juga meningkat dibandingkan dengan yang tidak diiradiasi ? Apakah mungkin untuk meningkatkan dosis lebih dari 30 Gy untuk memperoleh daya bakterisida yang baik ?

Rosmiarty A. Wahid :

Dari hasil penelitian ini dosis rendah 5 Gy dan 10 Gy untuk semua penelitian cenderung meningkatkan daya bakterisida terhadap kedua bakteri/peng uji. Sedangkan untuk dosis 30 Gy (dikategorikan sebagai dosis sedang) hanya pada *C.zedoaria* menunjukkan peningkatan daya bakterisida terhadap *E. coli*.

Penggunaan dosis radiasi lebih dari 30 Gy tidak kami gunakan pada penelitian ini karena berdasarkan hasil penelitian (peneliti lain), dosis tinggi dari 3000 rad akan menyebabkan hilangnya beberapa komponen metabolit sekunder dari tanaman (IAEA, 1986).