

PENGARUH RADIASI NEUTRON CEPAT, NATRIUM KLOORIDA, DAPAR FOSFAT DAN DETERGEN RINSO TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* TINJA

Irwansyah

Pusat Penelitian Teknik Nuklir - Badan Tenaga Atom Nasional

ABSTRAK

PENGARUH RADIASI NETRON CEPAT, NATRIUM KLOORIDA, DAPAR FOSFAT DAN DETERGEN RINSO TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* TINJA. Bakteri *E. coli* tinja di biak awal satu malam di dalam larutan dapar fosfat pH 6, lalu diiradiasi dengan neutron cepat dan diencerkan dengan larutan yang sama. Bakteri dibiak pada permukaan medium padat Bacto Nutrient Agar (Difco) yang secara terpisah masing-masing diperkaya dengan NaCl 2, 4, dan 6%, rinso 2, 4, dan 6%, dapar fosfat pH 4, 6, dan 8, lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama tiga hari. Hasil menunjukkan bahwa bakteri amat sensitif terhadap radiasi neutron cepat dan NaCl, dan dapar fosfat dapat memacu perbanyakan bakteri yang diiradiasi, sedang pada medium yang dibuat kaya dengan detergen rinso, tidak ada bakteri yang tumbuh.

ABSTRACT

INFLUENCE OF NEUTRON IRRADIATION, SODIUM CHLORIDE, PHOSPHATE BUFFER, AND RINSO DETERGENT ON FECAL *Escherichia coli*. *E. coli* from human faeces that as precultured overnight in phosphate buffer solution at pH 6 was irradiated with fast neutrons and diluted with the same solution. Bacteria were cultured on Bacto Nutrient Agar (Difco) enriched with NaCl at concentrations of 2, 4, and 6%, phosphate buffer of pH 4, 6, and 8, and rinso at concentrations of 2, 4 and 6% and then incubated at 35°C. The results of the experiments showed that the *E. coli* bacteria are very sensitive to neutron irradiation and NaCl, and phosphate buffer can accelerate the growth of irradiated bacteria. No growth bacteria was observed on the medium enriched with rinso.

PENDAHULUAN

Escherichia coli adalah salah satu bakteri yang populer dalam kehidupan manusia baik dalam bidang rekayasa genetika, industri bioteknologi atau salah satu faktor penentu kebersihan air.

Penelitian tentang bakteri ini sudah maju pesat. Gangguan atau kerusakan yang terjadi pada DNA-nya sebagai akibat pengaruh lingkungan (fisika dan kimia) diatasi dan diperbaiki dengan mengaktifkan seluruh sistem sel sehingga bakteri kembali pada keadaan semula [1,2]. Mekanisme kerja gen dalam sistem sel tersebut sudah dipelajari dengan cermat [3,4] baik peranannya dalam mengatur atau mengendalikan perbaikan dan pembelahan kromosom maupun sel, bentuk protein yang dihasilkan [5,6,7], serta cara merangsang aktivitasnya terutama untuk mengatasi hambatan-hambatan dalam proses perbaikan dan pembelahan DNA yang mengalami gangguan atau kerusakan [8,9, 10,11,12].

Pada beberapa organisme, antara lain yang sensitif terhadap sinar ultra violet, dilaporkan

bahwa proses perbaikan dan pembelahan sel semakin cepat dalam lingkungan yang mempunyai tekanan osmotik tinggi misalnya dalam larutan garam natrium klorida, sukrosa atau glukosa [13,14,15]. Sejauh ini belum banyak laporan tentang pengaruh radiasi neutron cepat terhadap bakteri *E.coli* dan lingkungan yang dapat membantu menyelamatkan bakteri dari pengaruh radiasi tersebut.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh radiasi neutron cepat, garam natrium klorida, dapar fosfat dan rinso terhadap bakteri *E. coli* tinja dalam rangka peninjauan daya guna bakteri ini, seperti *E. coli* lainnya, dalam bidang rekayasa genetika.

BAHAN DAN TATA KERJA

Bakteri

Sediaan bakteri *E. coli* berasal dari tinja manusia, diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran, Bandung. Bakteri dipelihara pada medium Bacto Nutrient Agar pada suhu 35°C, dan

setiap dua minggu dipindahkan pada medium sama yang segar.

Sediaan larutan

Larutan yang digunakan adalah larutan NaCl 2, 4, dan 6%; larutan rinso 2, 4, dan 6%; dan dapar fosfat dengan pH 2, 4, 6 dan 8.

Medium

Bacto Nutrient Agar dilarutkan dengan NaCl, rinso dan dapar fosfat sesuai dengan konsentrasi dan pH yang ditentukan. Untuk kontrol, Bacto Nutrient Agar dilarutkan dengan air yang sama untuk ketiga larutan sediaan di atas. Setelah disucihamakan di dalam otoklaf basah, medium dimasukkan ke dalam cawan petri berdiameter 12 cm dan setelah beberapa lama medium menjadi padat.

Membuat biakan cair bakteri dan iradiasi

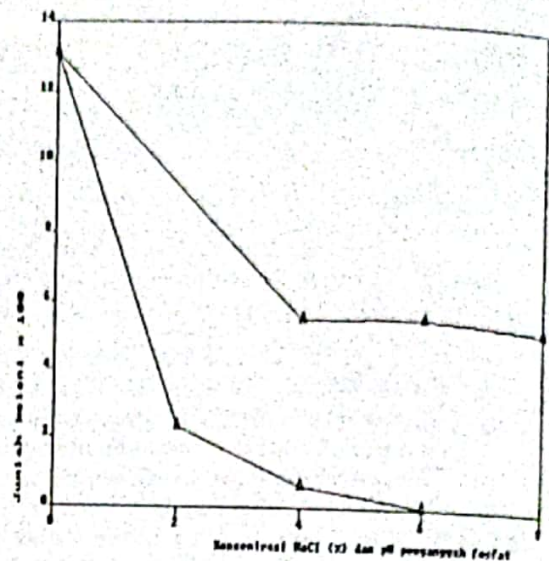
Biakan cair bakteri dibuat dengan 10 ml dapar fosfat pH 6 dan diinkubasikan selama 1 malam pada suhu 28°-30°C di atas pengocok berputar (orbital shaker Model 53) pada 80 rpm lalu diiradiasi dengan neutron cepat pada dosis 100, 300, dan 500 rad di Pusat Penelitian Teknik Nuklir, Bandung. Pada waktu mengiradiasi, daya reaktor adalah 200 kW dan dosis neutron rata-rata adalah 1,45 rad/detik.

Setelah diiradiasi, suspensi bakteri dencerkan dengan dapar fosfat yang sama. Sebanyak 0,1 ml suspensi dioles rata pada permukaan medium padat yang dibuat dengan ketiga larutan sediaan di atas lalu diinkubasikan pada suhu 35°C selama tiga hari lalu dihitung koloni bakteri yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bakteri *E. coli* amat sensitif terhadap radiasi neutron cepat dan NaCl seperti ditunjukkan dalam Gambar 1 dan 2. Ini berarti ada gangguan atau kerusakan pada gen yang mengendalikan pembelahan kromosom.

Pada sistem sel bakteri *E. coli*, sekurang-kurangnya ada 15 buah gen yang berperan dalam proses perbaikan dan pembelahan DNA [2]. Dua diantaranya adalah gen *lex-A* dan *rec-A* yang berperan sebagai koordinator umum [1,2]. Mekanisme kerja kedua gen ini telah digambarkan oleh beberapa peneliti [1,2,12] yaitu gen *rec-A* adalah sebagai penerima isyarat adanya gangguan atau kerusakan DNA, membangun isyarat baru yang diteruskan kepada gen *lex-A*. Gen *lex-A* membangun isyarat baru yang akan mengaktifkan genlain yang berkaitan langsung dalam proses perbaikan dan pembelahan DNA.

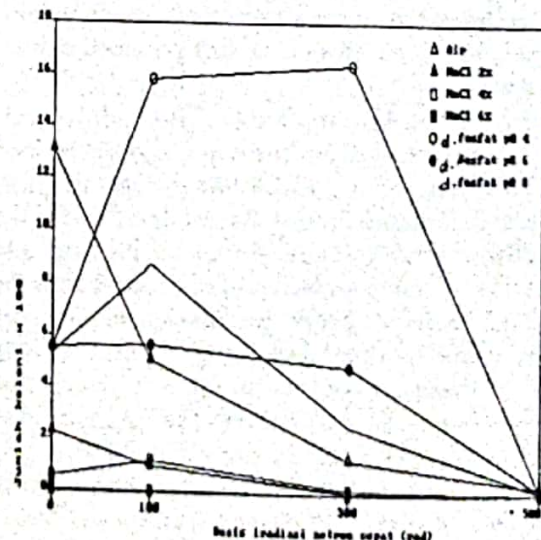


Keterangan :
Δ NaCl
◻ pH dapar fosfat

Gambar 1. Pengaruh garam natrium klorida dan dapar fosfat terhadap populasi bakteri *Escherichia coli* tinja.

Semua isyarat muncul dari perubahan jumlah protein yang dihasilkan oleh setiap gen.

Neutron cepat dengan daya penetrasi dan energi yang besar langsung mencapai, mengganggu atau merusak gen tersebut di atas. Semakin besar dosis radiasi semakin besar gangguan atau kerusakan yang dialami gen dan



Gambar 2. Pengaruh iradiasi neutron cepat, garam natrium dan dapar fosfat terhadap populasi bakteri *Escherichia coli* tinja.

Tabel 1. Pengaruh radiasi neutron cepat, natrium klorida dapar fosfat dan rinso terhadap populasi bakteri *Escherichia coli* tinja.

Pelarut medium	Dosis radiasi neutron cepat (rad)			
	0	100	300	500
Air	1310 ± 3,6	510 ± 3,0	130 ± 3,0	20 ± 1,0
NaCl				
2%	230 ± 2,7	102 ± 4,1	6,7 ± 2,1	0
4%	60 ± 1,0	122 ± 1,7	17 ± 2,0	0
6%	3,33 ± 0,6	3,33 ± 1,5	0	0
Dapar fosfat				
pH4	550 ± 2,7	1585 ± 3,0	1640 ± 10,5	3 ± 1,0
pH6	555 ± 2,0	565 ± 3,5	485 ± 3,5	13 ± 4,0
pH8	530 ± 1,7	873 ± 3,0	260 ± 2,7	7 ± 1,0
Rinso				
2%	0	0	0	0
4%	0	0	0	0
6%	0	0	0	0

semakin sedikit jumlah bakteri yang mampu tumbuh membentuk koloni.

Kalau pada beberapa organisme seperti *Bacillus subtilis* garam NaCl mampu mempercepat proses perbaikan atau pembelahan DNA [13,14], maka pada penelitian ini terhadap *E. coli* tinja adalah sebaliknya. Berdasarkan mekanisme kerja gen dalam sistem sel tersebut di atas, maka ada dua kemungkinan yang diperankan oleh garam NaCl terhadap aktivitas gen tersebut. Pertama adalah menghambat kemampuan gen, membangun isyarat baru dan kedua adalah menghambat penghantaran isyarat pada setiap tahap di mana isyarat harus dihantarkan. Oleh karena itu terhadap bakteri *E. coli* tinja, tidak bisa diharapkan garam NaCl dapat menolong memacu pertumbuhan bakteri radiasi sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 2.

Pengaruh dapar fosfat terhadap bakteri dapat dilihat pada Gambar 1. Populasi koloni pada setiap pH dapar fosfat adalah hampir sama (Tabel 1). Akan tetapi jumlahnya turun lebih dari 50% dibandingkan dengan jumlah koloni pada medium dapar fosfat. Ini mungkin disebabkan oleh elemen kimia garam Na_2HPO_4 dan KH_2PO_4 sebagai pembuat dapar fosfat tersebut. Yang menarik adalah kemampuan dapar fosfat tersebut terutama pada pH 4 dapat memacu pertumbuhan bakteri yang diiradiasi dibanding dengan jumlah koloni yang terbentuk pada medium tanpa dapar fosfat (Gambar 2). Ini

menunjukkan adanya dua kemungkinan yang diperankan oleh dapar fosfat. Pertama dapar menyerap sebagian energi yang dibawa oleh neutron cepat dan selanjutnya merangsang aktivitas gen yang mengalami gangguan oleh karena radiasi. Kedua, dapar tersebut berperan langsung menghantarkan isyarat yang dibangun oleh setiap gen sehingga proses perbaikan atau pembelahan DNA menjadi lebih cepat. Pada penelitian ini, pengaruh detergen rinso adalah fatal buat kelangsungan hidup bakteri. Tidak ada bakteri yang hidup pada setiap konsentrasi rinso yang digunakan. Belum diketahui apakah konsentrasi rinso terlalu tinggi sehingga bersifat bakteriosid.

KESIMPULAN

1. Bakteri *E. coli* tinja amat sensitif terhadap radiasi neutron cepat yang dicoba sampai dengan dosis 500 rad.
2. Bakteri *E. coli* tinja amat sensitif terhadap garam natrium klorida yang dicoba sampai dengan konsentrasi 6% dan tahan terhadap pengaruh dapar fosfat pada Ph 4, 6, dan 8.
3. Dapar fosfat mampu memacu pertumbuhan bakteri radiasi sedangkan garam natrium klorida tidak.
4. Pada percobaan ini, bakteri *E. coli* sudah tidak mampu tumbuh dalam lingkungan detergen rinso pada konsentrasi terendah yaitu 2%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih ditujukan kepada DR. Dewi S dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung

atas sumbangan sediaan bakteri pada medium padat. Juga kepada DR. M. Darussalam, Drs. Aris T., Dra. Dona S., Dra. Sri L., dan Apung R atas segala bantuan yang diberikan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Little, J.W. and Mount, D.W., The SOS regulatory systems of *Escherichia coli*, Cell 29(1982) 11-22.
2. Walker, G.C., Mutagenesis and inducible responses to deoxyribonucleic acid damage in *Escherichia coli*, Microbiological Reviews 48(1) (1984) 60-93.
3. Whittier, R.F., and Chase, J.W., DNA repair properties of *Escherichia coli* tif-1, rec-Ao281 and lex-A1 strains deficient in single-strand DNA binding protein Mol. Gen. Genet 190(1983) 101-111.
4. Whittier, R.F., and Chase, J.W., DNA repair in *E. coli* strains deficient in single-strand DNA binding protein, Mol. Gen. Genet 183 (1981) 341-347.
5. Brent, R., Regulation and autoregulation by lex-A protein, Biochemie 64 (1982) 565-569.
6. Lother, H., Kolling, R., Kucherer, C., and Schauzu, M., DNA protein regulated transcription: Effects on the in-vitro replication of *Escherichia coli* mini chromosomes, The Embo Journal 4(2) (1985) 555-560.
7. Moreau, P.L., and Roberts, J.W., Rec-A protein promoted x- repressor cleavage: Complementation between Rec-A441 and Rec-A430 proteins in vitro, Mol Gen Genet 198 (1984) 25-34.
8. DeMassy, B., Patte, J., Lourn, J.M., and Bouche, J.P., Ori-X : A new replication origin in *E. coli*, Cell 36 (1984) 221-227.
9. DeMassy, B., Fayet, D., and Kogoma, T., Multiple origin usage for DNA replication in sdr-A(rnh) mutants of *Escherichia coli* K-12, Initiation on the absence of Ori-C, J. Mol. Biol. 178 (1984) 227-236.
10. Llagostera, M., Guerrero, R., Villaverde A., and Barbe, J., Effect of adenine, cytidine and guanosine on the expression of the SOS system in *Escherichia coli*, J. of Microbiology 131 (1985) 113-118.
11. Lieberman, H.B., and Witkin, E.M., DNA degradation, UV sensitivity and SOS mediated mutagenesis in strains of *Escherichia coli* deficient in single DNA binding protein: Effects of mutations and treatments that alter levels of exonuclease Vor Rec-A protein, Mol. Gen. Genet 190(1983) 92-100.
12. Markham, B.E., Harper, J.E., and Mount, D.W., Physiology of the SOS response : Kinetic of lex-A and rec-A transcriptional activity following induction, Mol Gen Genet, 198 (1985) 207-212.
13. Hawthorne, D.C. and Friis, J., Osmotic remedial mutants, A new classification for nutritional mutant in yeast, Genetics 50 (1984) 829-839.
14. Irwansyah, Pengaruh natrium klorida dan suhu inkubasi terhadap gen DNA-8132 rec-43 *Bacillus subtilis* yang diradiasi dengan ultraviolet, Majalah BATAN XX (2) (1987) 1-5.
15. Shimazu, Y., Morimyo, M., and Suzuki, K., Temperature sensitive recovery of mutant of *Escherichia coli* K-12 irradiated with ultraviolet light, J. Bacteriol 107 (1981) 623-632.

DISKUSI

Nurhayati:

1. Pada umumnya inkubasi *E.coli* pada 37°C, sedang anda menggunakan temperatur 37°C. Apakah ada alasan khusus?
2. Sebaiknya suatu penelitian mempunyai arti nilai tambah. Karena itu sebelum melakukan penelitian agar dikaji dulu beberapa aspek yang mendasari dilakukannya penelitian tersebut. Beberapa aspek yang dimaksud adalah aspek filosofis, aspek politis dan aspek teknis. Dengan memikirkan ketiga aspek tadi diharapkan anda dapat merumuskan tujuan / sasaran penelitian tersebut dengan jelas. Bagaimana pendapat Saudara?
3. Agar isi makalah yang Saudara buat ini ada kesepadanan dengan judulnya maka disarankan agar judul makalah Saudara diubah dari PENGARUH NETRON CEPAT, NATRIUM KLORIDA, DAPAR FOSFAT DAN DETERGEN RINSO TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli* TINJA menjadi EFEK RADIASI NETRON CEPAT TERHADAP DAYA TUMBUH BAKTERI *Escherichia coli* DALAM MEDIA YANG MENGANDUNG BERBAGAI MACAM KADAR NaCl, pH DAPAR FOSFAT DAN DETERGEN RINSO

Irwansyah :

1. Pada kebanyakan acuan dan yang kami coba sendiri temperatur inkubasi 35°-37°C adalah suhu inkubasi yang baik untuk *E. coli*. Artinya, temperatur inkubasi tersebut tidak banyak mempengaruhi kemampuan tumbuh koloni bakteri.
2. Setuju. Urutannya apakah akan lebih baik kalau aspek filosofis, teknis dan aspek politis?
3. Pada mulanya judul kami ajukan demikian, akan tetapi diminta untuk lebih disederhanakan seperti judul sekarang dan disetujui karena tidak mempengaruhi keterkaitannya dengan isi makalah. Walau demikian, kami mengucapkan terimakasih atas sarannya.

M. Darussalam :

Perlu dipertajam tujuannya!. Mungkin perlu ditambahkan pada sasaran penelitian dalam laporan!

Irwansyah :

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh radiasi neutron cepat, garam natrium klorida, dapar fosfat dan rinso terhadap bakteri *Escherichia coli*.