

EFEK IRADIASI SINAR BERKAS ELEKTRON DAN γ PADA SPORA *BACILLUS MEGATERIUM* DAN *CLOSTRIDIUM TETANI* DALAM KONDISI KERING

Nikhām

Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi - Badan Tenaga Atom Nasional

ABSTRAK

EFEK IRADIASI SINAR BERKAS ELEKTRON DAN γ PADA SPORA *BACILLUS MEGATERIUM* DAN *CLOSTRIDIUM TETANI* DALAM KONDISI KERING. Telah dilakukan penelitian tersebut dengan perlakuan sebagai berikut; iradiasi berkas elektron pada dosis 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 kGy, dengan kecepatan konveyer 7,8 m/menit dan arus 5 mA. Iradiasi γ pada dosis tersebut, dengan laju dosis 5 kGy/jam, pada suhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Sampel spora dalam suspensi tanpa serum, dengan serum, dengan bufer, dan dengan talek disiapkan dalam kondisi kering pada kertas saring gelas fiber steril, dan iradiasi dilakukan dalam suasana aerob dengan RH sekitar 90%. Hasilnya menunjukkan bahwa tidak terlihat adanya perbedaan yang nyata pada harga D_{10} dari spora yang diiradiasi baik tanpa serum maupun yang diiradiasi dengan serum, bufer dan talek. Juga tidak ada perbedaan yang nyata pada harga D_{10} dari dua jenis spora karena perlakuan iradiasi berkas electron dan sinar γ . Dan juga tidak ada perbedaan yang mencolok pada harga D_{10} yang diperoleh dari berkas elektron dan sinar γ .

ABSTRACT

THE EFFECT OF ELECTRON BEAM AND γ RAY IRRADIATION ON *BACILLUS MEGATERIUM* AND *CLOSTRIDIUM TETANI* SPORES IN DRY CONDITION. This investigation was done using following treatments. The electron beam irradiation was done at doses 0, 2, 4, 6, 8, 10 kGy, at conveyor speed 7.8 m/minutes and at current 5 mA. γ irradiation was done at doses the same with electron beam, at dose rate 5 kGy/hour, and at room temperatures i.e $30 \pm 2^\circ\text{C}$. Spores sample were prepared in dry condition, on sterile fibre glass filter papers, and irradiation was carried out in aerobic state with RH 90%. The results showed that the D_{10} value didn't give significant difference between spores which were irradiated either without serum or with serum, buffer and talc. Also didn't give significant difference between both of spores and between electron beam and γ irradiation treatments.

PENDAHULUAN

Teknik radiasi sinar γ untuk mengontrol kehidupan mikroba sudah lazim digunakan, tetapi teknik radiasi berkas elektron belum banyak dilakukan, kecuali di Denmark dan Jepang [1]. Dalam penelitian ini telah dibandingkan efek radiasi berkas elektron dan sinar γ pada spora bakteri *B. megaterium* dan *C. tetani*. Bakteri *B. megaterium* hidup aerobik tersebar di alam dan dianggap sebagai saprofit, sedangkan *C. tetani* hidup anaerobik tersebar di seluruh dunia dalam tanah dan tinja binatang. Bakteri *C. tetani* terkenal menjadi penyebab penyakit tetanus sebagai akibat dari suatu toksemia dengan racun yang menyerang jaringan syaraf, jaringan syaraf tulang belakang dan jaringan perifer [2 - 4]. Di samping itu kedua jenis bakteri tersebut termasuk tahan radiasi dan sering mengkontaminasi alat-alat kedokteran,

sedihan farmasi, sedihan jamu dan bahan makanan [5, 6].

Penelitian efek radiasi berkas elektron dan sinar γ pada spora bakteri *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. subtilis*, telah dilakukan penulis di TRECE, JAERI [7] serta *B. stearothermophilus* dan *B. sphaericus* di PAIR, BATAN [8] dengan hasil cukup baik. Dalam hal ini energi radiasi tersebut dapat memberikan efek eksitasi dan ionisasi pada DNA spora bakteri, akibatnya DNA akan luka dan rusak, sehingga menyebabkan kematian sel. Adapun jenis kerusakan tersebut misalnya kerusakan pada *strand* ganda, *strand* tunggal, terjadi alkilasi, hidrasi, distorsi setempat karena pirimidin dimer, ikatan silang *inter-strand* dan protein-DNA [6, 9, 10].

Adapun tujuan penelitian yaitu untuk mendapatkan harga D_{10} spora bakteri *B. mega-*

terium dan *C. tetani* yang diiradiasi pada berkas elektron dan sinar γ , sehingga dapat dipakai dalam menentukan dosis sterilisasi untuk mensterilkan alat-alat kedokteran, sediaan farmasi, obat-obatan, jaringan biologi, dan untuk pengawetan jamu serta bahan pangan dan hasil olahannya.

BAHAN

Bahan

Galur bakteri yang dipakai ialah *B. megaterium* dan *C. tetani* diperoleh dari Balitvet Bogor. Untuk pembiakan digunakan media Fluid Thioglycollate Medium (FTM) buatan MERCK, sedangkan untuk panen spora dan penentuan angka bakteri digunakan media Trypticase Soya Agar (TSA) buatan OXOID. Pemilihan media berdasarkan Manual dari Oxoid [11]. Sebagai bahan pembawa (kertas saring gelas fiber) dan bahan kimia buatan MERCK.

TATA KERJA

Panen spora bakteri

Galur bakteri *B. megaterium* dan *C. tetani* dibiakkan pada media FTM yang diaram pada suhu $37 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam. Setelah itu dibiakkan pada media TSA, diaram selama 24 jam, lalu koloni yang tumbuh dipilih satu yang baik untuk dibiakkan dan diaram selama 8 hari (sporulasi $\pm 95\%$). Spora dipanen dalam air suling steril, lalu suspensi dipusingkan dengan alat HITACHI CENTRIFUGE 03P-22 pada kecepatan 3.000 rpm selama 15 menit, kemudian dicuci tiga kali dengan air suling steril. Setelah bersih, suspensi spora bakteri dibuat dengan air suling, serum darah bovine, bufer, talek, dan konsentrasinya diatur sekitar 10^8 spora per ml. Suspensi sekitar 0,02 ml diteteskan pada kertas saring gelas fiber steril, lalu dikeringkan dalam laminar air flow selama 7 jam.

Iradiasi sampel pada berkas elektron

Untuk percobaan perlakuan iradiasi berkas elektron, sampel pada kertas saring gelas fiber dimasukkan dalam kantong plastik kemudian diiradiasi pada dosis 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 kGy, dengan laju dosis 10 kGy per pass (300 keV, arus 5 mA, dan kecepatan konveyer 7,8 m/menit).

Iradiasi sampel pada sinar γ

Untuk percobaan perlakuan iradiasi sinar γ , sampel bakteri tersebut diiradiasi pada dosis 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 kGy, dengan laju dosis 5 kGy/jam.

Pengamatan

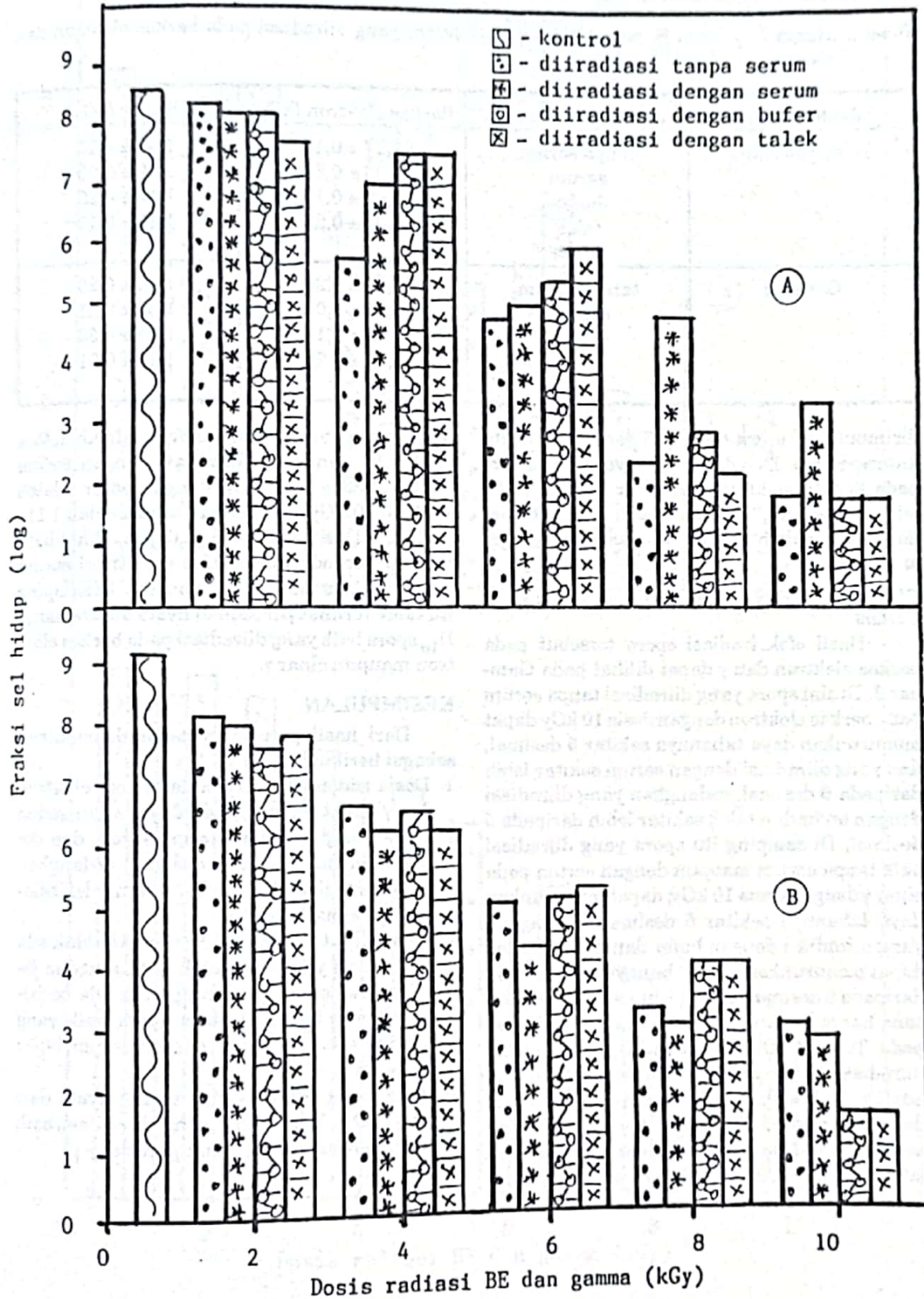
Sampel yang telah diiradiasi, dikeluarkan dari kantong plastik, lalu direndam selama 30 menit dalam tabung reaksi yang berisi air suling steril. Pada pengenceran tertentu suspensi bakteri sekitar 0,02 ml, dibiakkan pada media TSA dan diaramkan selama 7 hari. Koloni yang tumbuh tiap hari dihitung. Datanya diolah untuk dibuat grafik dan diperkirakan harga D_{10} dengan bantuan komputer.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Efek radiasi berkas elektron dan sinar γ pada spora *B. megaterium*

Hasil efek iradiasi spora *B. megaterium* pada berkas elektron dan sinar γ dapat dilihat pada Gambar 1. Di sini spora yang diiradiasi dengan serum pada berkas elektron dengan dosis 10 kGy dapat menurunkan daya tahannya lebih daripada 4 desimal, sedangkan yang diiradiasi tanpa serum, dengan bufer dan dengan talek dapat menurunkan daya tahannya sekitar 6 desimal. Demikian juga spora yang diiradiasi baik dengan serum maupun tanpa serum pada sinar γ dapat menurunkan daya tahannya sekitar 5 desimal. Sedangkan yang diiradiasi dengan bufer dan dengan talek dapat menurunkan daya tahannya sekitar 6 desimal. Supaya lebih jelas maka telah dihitung harga D_{10} -nya dengan bantuan komputer dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Di sini harga D_{10} spora yang diiradiasi tanpa serum pada berkas elektron adalah $1,17 \pm 0,19$ kGy, sedangkan yang diiradiasi dengan serum adalah $1,66 \pm 0,27$ kGy, dengan bufer adalah $1,06 \pm 0,15$ kGy, dan dengan talek adalah $1,03 \pm 0,27$ kGy. Selanjutnya spora yang diiradiasi tanpa serum pada sinar γ adalah $1,42 \pm 0,18$ kGy dan yang diiradiasi dengan serum adalah $1,39 \pm 0,23$ kGy, dengan bufer $1,15 \pm 0,20$ kGy, dan dengan talek $1,18 \pm 0,17$ kGy. Sebagai bandingan harga D_{10} spora *B. megaterium* S7 yang diiradiasi dengan pepton-gliserin adalah 1,8 kGy, dan untuk spora *B. megaterium* S5 yang diiradiasi dalam kondisi yang sama adalah 1,9 kGy [12]. Dalam hal ini yang dimaksud serum adalah serum bovine, berasal dari darah anak sapi. Serum darah didefinisikan sebagai darah yang telah dipisahkan dari eritrosit, leukosit, platelet, dan protein plasma dan biasanya disiapkan bersama bakteri antigenik, yang diinokulasikan untuk mempengaruhi penyembuhan penyakit [13]. Dari hasil tersebut dapat



Gambar 1. Efek iradiasi berkas elektron (A) dan γ (B) pada spora bakteri *B. megaterium*

Tabel 1. Harga D_{10} spora *B. megaterium* dan *C. tetani* yang diiradiasi pada berkas elektron dan sinar γ .

Jenis bakteri	Suspensi	Berkas elektron (kGy)	Sinar γ (kGy)
<i>B. megaterium</i>	tanpa serum	1,17 ± 0,19	1,42 ± 0,18
	serum	1,66 ± 0,27	1,39 ± 0,23
	bufer	1,06 ± 0,15	1,15 ± 0,20
	talek	1,03 ± 0,27	1,18 ± 0,17
<i>C. tetani</i>	tanpa serum	1,61 ± 0,25	1,45 ± 0,20
	serum	1,21 ± 0,01	1,36 ± 0,21
	bufer	1,03 ± 0,15	1,15 ± 0,30
	talek	1,14 ± 0,20	1,11 ± 0,01

disimpulkan bahwa tidak ada perbedaan nyata antara harga D_{10} dari spora yang diiradiasi pada berkas elektron dan sinar γ . Juga tidak jelas efek serum, bufer dan talek sendiri terhadap spora apakah bersifat proteksi atau sebagai sensitizer.

*Efek radiasi berkas elektron dan sinar γ pada spora *C. tetani**

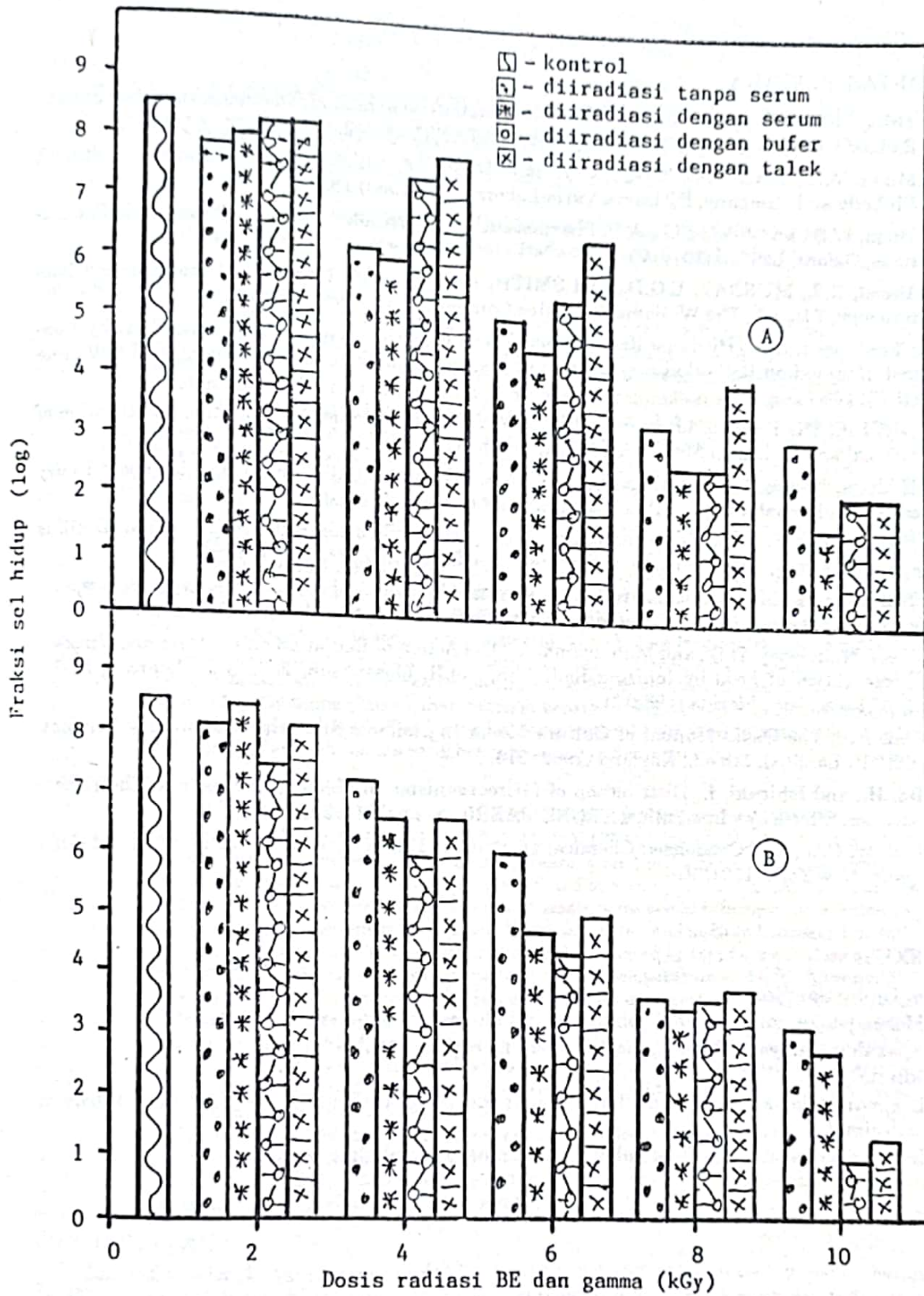
Hasil efek iradiasi spora tersebut pada berkas elektron dan γ dapat dilihat pada Gambar 2. Di sini spora yang diiradiasi tanpa serum pada berkas elektron dengan dosis 10 kGy dapat menurunkan daya tahannya sekitar 5 desimal, dan yang diiradiasi dengan serum sekitar lebih daripada 6 desimal, sedangkan yang diiradiasi dengan bufer dan talek sekitar lebih daripada 5 desimal. Di samping itu spora yang diiradiasi baik tanpa serum maupun dengan serum pada sinar γ dengan dosis 10 kGy, dapat menurunkan daya tahannya sekitar 5 desimal. Sedangkan yang diiradiasi dengan bufer dan dengan talek dapat menurunkan daya tahannya sekitar lebih daripada 6 desimal. Untuk lebih jelas telah dihitung harga D_{10} -nya dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1. Di sini harga D_{10} spora yang diiradiasi tanpa serum pada berkas elektron adalah 1,61 ± 0,25 kGy, dan yang diiradiasi dengan serum adalah 1,21 ± 0,01 kGy, dengan bufer adalah 1,03 ± 0,15 kGy, dan dengan talek adalah 1,14 ± 0,20 kGy. Sedangkan yang diira-

diasi tanpa serum pada sinar γ adalah 1,45 ± 0,20 kGy, dan yang diiradiasi dengan serum adalah 1,36 ± 0,21 kGy, dengan bufer adalah 1,15 ± 0,30 kGy, dan dengan talek adalah 1,11 ± 0,01 kGy. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa ada kecenderungan efek sensitisasi serum terhadap daya tahan spora tersebut. Di samping itu tidak terlihat perbedaan nyata antara harga D_{10} spora baik yang diiradiasi pada berkas elektron maupun sinar γ .

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Dosis radiasi 10 kGy pada berkas elektron dan γ dapat menurunkan daya tahan kedua spora yang diiradiasi tanpa serum dan dengan serum sekitar 5 desimal, sedangkan yang diiradiasi dengan bufer dan talek sekitar 6 desimal.
2. Jika dilihat dari harga D_{10} , maka tidak ada perbedaan yang mencolok antara kedua jenis spora tersebut, dan juga tak ada perbedaan yang berarti antara spora baik yang diiradiasi tanpa serum, dengan serum, bufer maupun talek.
3. Juga tidak ada perbedaan yang nyata dari harga D_{10} dari spora yang diiradiasi baik pada berkas elektron maupun sinar γ .



Gambar 2. Efek iradiasi berkas elektron (A) dan γ (B) pada spora bakteri *C. tetani*

DAFTAR PUSTAKA

1. Hilmy, N., Penetapan dosis sterilisasi dan pasteurisasi radiasi, Diskusi Panel Penggunaan Radiasi Untuk Sterilisasi Alat Kedokteran, BATAN (1990) 42.
2. Mikat, M.D., dan MIKAT K.W., A Clinician's Dictionary Guide to Bacteria and Fungi, 4th. ed. Eli Lilly and Company, PT Darya Varia Laboratoria, (1983) 18.
3. Hugo, W.B., and RUSSELL, A.D., Pharmaceutical Microbiology, Blackwell Scientific Publications, Oxford, London (1977) 21.
4. Breed, R.S., MURRAY, E.G.D., and SMITH, N.R., Bergey's Manual of Determination Bacteriology, 7 th. ed., The Williams & Wilkins Company, Baltimore (1957) 676.
5. Christensen, E.A., Hygienic Requirements Sterility Criteria and Quality and Sterility Control, (Manual on Radiation Sterilization of Medical and Biological Materials), IAEA, Vienna (1973) 131.
6. Ley, F.J., The Effect of Ionizing Radiation on Bacteria (Manual on Radiation Sterilization of Medical and Biological Materials), IAEA, Vienna (1973) 37.
7. Nikham, Kume, T., and Ishigaki, I., Effect of EB and γ irradiation on Bacillus spore in dry condition, Risalah Simp. IV APISORA, BATAN (1990) 963.
8. Nikham, Dan Febrida, Penentuan harga D_{10} spora Bacillus stearothermophilus dan Bacillus sphaericus yang diiradiasi pada berkas elektron dan sinar γ , BATAN, belum terbit.
9. Tallentire, A., Modification of radiation response by chemical and physical agents, Department of Pharmacy, University of Manchester, Oxford Road, Manchester, U.K. (1990).
10. Grecz, N., Rowley, D.B., and Matsuyama, A., The Action of Radiation on Bacteria and Viruses, Preservation of Food by Ionizing Radiation, Vol.II, (Josephson, E.S., and Peterson, M.S.), CRC Press, Inc., Florida (1983) 167.
11. Anonym, The Oxoid Manual of Culture Media Ingredients and other Laboratory Services, OXOID Limited, 5th ed., England (1982) 314.
12. Ito, H., and Ishigaki, I., Distribution of Microorganisms in Medical Devices and Their Inactivation Effects by γ Irradiation, TRCRE, JAERI, Takasaki (1986).
13. Howley, G.G., The Condensed Chemical Dictionary, 10th. ed., Van Nostrand, Reinhold Company, New York (1981) 916.

DISKUSI

Ign. Djoko Sardjono:

1. Mohon penjelasan mengenai pemakaian istilah desimal dalam makalah Bapak.
2. Apakah istilah yang Bapak gunakan sudah merupakan istilah baku?

Nikham:

1. Desimal adalah suatu satuan bilangan bulat dari pangkat sepuluh. Misal 10^1 dan 10^2 berarti satu desimal.
2. Istilah desimal sudah baku dipakai dalam grafik pertumbuhan bakteri.