

PAIR/P.248/1987

DAYA TAHAN BAKTERI *Salmonella*  
*typhimurium* TERHADAP SINAR GAMMA

Harsojo, dan Lidia Andini S.

## DAYA TAHAN BAKTERI *Salmonella typhimurium* TERHADAP SINAR GAMMA

Harsojo\*, dan Lidia Andini S.\*

### ABSTRAK

DAYA TAHAN BAKTERI *Salmonella Typhimurium* TERHADAP SINAR GAMMA. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya tahan bakteri *S. typhimurium* terhadap sinar gamma, suhu, pH di dalam suspensi sel  $10^8$  dan homogenat tinja. Daya tahan bakteri *S. typhimurium* di dalam suspensi sel  $10^8$  diiradiasi dengan sinar gamma ( $^{60}\text{Co}$ ) pada dosis 0; 0,15; 0,30; dan 0,45 kGy dengan laju dosis 1,00 kGy/j di Gamma Cell 220 dan ditanam pada media yang mempunyai pH 6, 7, dan 8. Kemudian diinkubasi pada suhu  $30^\circ$ ,  $37^\circ$ , dan  $42^\circ\text{C}$  selama 2x24 jam. Daya tahan bakteri *S. typhimurium* dalam homogenat tinja 10% dalam media TGY cair diiradiasi dengan sinar gamma pada dosis 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5 kGy dengan laju dosis 0,95 kGy/j. Setelah diiradiasi bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar ( $28^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ ). kemudian ditanam dalam media SS, Mac Conkey, dan XLD. Setelah 2x24 jam ditumbuhkan dalam cawan petri diamati pertumbuhan koloni serta dihitung jumlah koloni per ml. Hasil penelitian dalam suspensi sel menunjukkan iradiasi dan pH media mempunyai pengaruh yang nyata terhadap jumlah koloni bakteri. Iradiasi dengan dosis 0,45 kGy dapat menurunkan jumlah koloni bakteri sebesar 5 desimal dengan variasi pH 6-8. Sedang hasil penelitian dalam homogenat tinja menunjukkan tidak ada pengaruh yang nyata di antara media pertumbuhan.

### ABSTRACT

THE RESISTANCE OF *Salmonella Typhimurium* ON GAMMA IRRADIATION. This research intended to investigate the resistance of *S. typhimurium* on the gamma irradiation, temperature and pH in the cell suspension of  $10^8$  and homogenate sludge medium. The resistance of bacteria *S. typhimurium* in cells suspension of  $10^8$  was irradiated with gamma rays ( $^{60}\text{Co}$ ) at the doses of 0; 0.15; 0.30; and 0.45 kGy. The dose rate was 1.00 kGy/h, in the Gamma Cell 220 irradiator and then the suspension was plated on the media, which have pH from 6, 7, and 8. Then incubated at temperatures of  $30^\circ$ ,  $37^\circ$ , and  $42^\circ\text{C}$  for 2x24 hours. The resistance of bacteria *S. typhimurium* in 10% sludge homogenate in TGY broth was irradiated with gamma rays at doses of 0; 0.5; 1.0; 1.5; 2.0; and 2.5 kGy with a dose rate of 0.95 kGy/h. after irradiation the bacteria was incubated for 24 hours at room temperature ( $28^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ ), then inoculated on SS, Mac Conkey, and XLD media. After 2x24 hours grows on petri dishes, the growth of colonies were observed and total bacterial counts per ml was calculated. The results showed irradiation and pH media gave a significant decrease in the total bacterial count. Irradiation doses of 0.45 kGy reduced the total number of bacterial counts by 5 log cycles with the pH variation from 6-8 while the results in the sludge homogenate showed that the media gave no significant effect on the growth capabilities of *S. typhimurium*.

### PENDAHULUAN

Penerapan sludge sebagai pupuk merupakan hal yang perlu diperhitungkan mengingat tinja masih mempunyai nilai makanan bagi pertumbuhan tanaman. Akan tetapi, beberapa masalah timbul di dalam penerapannya, antara lain tinja mengandung bakteri patogen, seperti salmonella, parasit, dan se-

nyawa toksin, baik dalam bentuk organik maupun anorganik (1, 2). Untuk menghilangkan atau mengeliminasi hal-hal tersebut, menurut FARREL dan STERN (3), dapat dilakukan dengan pemanasan hingga  $70^\circ\text{C}$  selama 30 menit atau dengan iradiasi pengion. Walaupun demikian, cara pemanasan tersebut membutuhkan bahan bakar yang tidak murah.

*Salmonella* merupakan bakteri yang dapat menyebabkan penyakit salmonellosis. Penyakit ini berbahaya terutama

\* Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN

lakukan setelah 2x24 jam. Daya tahan *S. typhimurium* dalam homogenat tinja dilakukan seperti pada (7).

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis jumlah koloni per ml suspensi *S. typhimurium* karena pengaruh iradiasi, pH, dan suhu ditunjukkan pada Tabel 1 dan 2. Dari Tabel tersebut dapat dikemukakan bahwa jumlah koloni bakteri sangat dipengaruhi oleh pH. Hasil pengamatan pengaruh suhu terhadap pertumbuhan *S. typhimurium* pada bermacam-macam pH ditunjukkan pada Tabel 1. Dari Tabel 1 dapat dikemukakan bahwa suhu tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan *S. typhimurium* pada pH 6, 7, dan 8. Hal ini mungkin disebabkan *S. typhimurium* mempunyai kisaran suhu pertumbuhan yang lebar.

Pengaruh iradiasi terhadap jumlah koloni bakteri per ml dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2. Jumlah koloni bakteri per ml makin menurun dengan meningkatnya dosis iradiasi. Pada dosis 0,45 kGy jumlah koloni *S. typhimurium* mengalami penurunan sebesar 5 desimal, baik pada suhu 30°, 37°, dan 42°C dengan variasi pH 6-8. Jumlah koloni bakteri pada dosis 0 kGy berbeda nyata dengan 0,15; 0,30; dan 0,45 kGy. Hal ini berarti bahwa iradiasi dapat menurunkan secara nyata jumlah koloni bakteri *S. typhimurium*. Iradiasi pada dosis 0,45 kGy jumlah koloni bakteri *S.*

*typhimurium* 5 desimal lebih sedikit dari yang tidak diiradiasi.

Dari daya tahan *S. typhimurium* pada bermacam-macam pH dengan suhu inkubasi 30°C (Gambar 1) terlihat bahwa *S. typhimurium* pada pH 6 dengan suhu 30°C cenderung lebih tahan terhadap iradiasi dibandingkan pada pH 7 dan 8. Hal ini mungkin disebabkan pH 6 merupakan pH optimum untuk pertumbuhan *S. typhimurium* pada suhu 30°C. Gambar 2 menyajikan daya tahan *S. typhimurium* terhadap sinar gamma pada suhu 37°C. Pada Gambar tersebut terlihat, bahwa pH 8 merupakan lingkungan yang menyebabkan *S. typhimurium* paling tahan terhadap iradiasi dibandingkan dengan pH 6 dan 7. Daya tahan *S. typhimurium* pada suhu 42°C diperlihatkan pada Gambar 3. Pada Gambar 3 terlihat daya tahan *S. typhimurium* pada pH 8 mempunyai kecenderungan lebih tahan terhadap iradiasi dibandingkan dengan pH 6 dan 7. Menurut HAKSOHUSODO (4), *Salmonella* tumbuh pada suhu 37°C dengan pH normal. Namun demikian, hasil penelitian ini menunjukkan kecenderungan makin tinggi suhu, inkubasi makin tinggi pula pH optimum yang mempengaruhi daya tahan *S. typhimurium* terhadap sinar gamma. Akan tetapi, Tabel 1 dan 2 menunjukkan interaksi suhu dan pH tidak nyata.

Pengaruh iradiasi pada homogenat tinja yang mengandung *S. typhimurium* dapat dilihat pada Tabel 3, sedang nilai F hasil analisis jumlah koloni

pada unggas muda, yaitu pada anak-anak ayam berumur di bawah 10 hari, selain dapat pula menyerang manusia. *Salmonella* sp. membentuk enterotoksin yang mirip dengan enterotoksin *Escherichia coli*. Setiap spesies salmonella dapat menimbulkan gastroenteritis, tetapi umumnya disebabkan oleh *S. enteritis* serotipe typhimurium. *Salmonella* termasuk bakteri enterobacteriaceae, gram negatif, motile, tidak ber- spora dan bersifat aerob, tak mampu mengadakan fermentasi laktosa (4). Menurut HAKSOHUSODO (4), *Salmonella* sp. tumbuh pada suhu 37°C dengan pH normal, tetapi dapat pula tumbuh pada suhu 42°C (5) walaupun suhu 42°C merupakan suhu ambang untuk mikroba lain.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya tahan bakteri *S. typhimurium* dalam homogenat tinja terhadap sinar gamma, suhu, dan pH media.

#### BAHAN DAN METODE

Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari koleksi Lab. Biologi, PAIR, Batan, sedang sampel tinja berasal dari Dinas Kebersihan DKI, Kebon Nanas, Jakarta. Percobaan menggunakan rancangan acak kelompok (6) dengan perlakuan dosis iradiasi (r) 4 taraf, yaitu, 0; 0,15; 0,30; dan 0,45 kGy, suhu inkubasi (S) 3 taraf, yaitu 30°, 37°, dan 42°C serta pH media (K) 3 taraf yaitu, 6, 7, dan 8, masing-masing

3 ulangan. Rancangan percobaan dalam homogenat tinja menggunakan rancangan acak kelompok (6) dengan perlakuan dosis iradiasi (D) 6 taraf, yaitu 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5 kGy, media (M) 3 taraf, yaitu, SS, Mac Conkey, dan XLD, masing-masing 4 ulangan. Angka hasil pengamatan ditransformasi ke  $\log X$ .

#### Media dan Persiapan Iradiasi.

Kultur diinkubasi semalam pada suhu 30°C di dalam TGY cair dengan komposisi 5 g tripton (Difco), 1 g glukosa (Difco), dan 3 g ekstrak ragi (Difco) per liter air suling (pH 7,0). Kemudian kultur tersebut diencerkan 10 kali dengan media TGY cair yang baru. Untuk pertumbuhan kultur ke dua, diinkubasikan pada suhu 30°C. Pada fasa logaritma sel-sel dipanen dengan cara pemusingan (10.000 x g, 10 menit) dengan alat pemusing Sorvall RC-2B, kemudian dicuci 2 kali dengan air suling steril. Konsentrasi sel bakteri dalam suspensi dibuat sekitar  $10^8$  sel/ml. Suspensi tersebut kemudian diiradiasi dengan sinar gamma yang berasal dari Gamma Cell 220 ( $^{60}\text{Co}$ ). Setelah selesai diiradiasi, suspensi sel diencerkan bertingkat beberapa kali dan akhirnya ditanam 0,1 ml dengan cara mengoles pada permukaan media TGY padat dengan pH 6, 7, dan 8. Kemudian diinkubasi pada suhu 30°, 37°, dan 42°C. Penghitungan jumlah koloni bakteri per ml di-

per ml karena pengaruh iradiasi dan macam media pada bakteri tersebut dapat dilihat pada Tabel 4. Tabel 3 memperlihatkan bahwa pengaruh perbedaan media tidak berbeda nyata, begitu pula nilai F hitungunya. Hal ini berarti bahwa ketiga macam media tersebut baik untuk menumbuhkan *S. typhimurium* hasilnya hampir sama dan bisa dipakai salah satu dari ketiga media tersebut. Akan tetapi, pertumbuhan yang paling subur ialah pada media XLD. Iradiasi berpengaruh nyata (Tabel 4), akan tetapi antardosis iradiasi tidak begitu jelas perbedaannya bila dilihat dari nilai BNJ-nya.

Pengaruh iradiasi terhadap *S. typhimurium* pada berbagai macam media bisa dilihat pada Gambar 4. Makin besar dosis iradiasi, makin berkurang jumlah total bakteri, walaupun tidak berbeda nyata. Di dalam homogenat tinja, dosis iradiasi sampai dengan dosis 2,5 kGy penurunan jumlah koloni bakteri *S. typhimurium* kurang dari 1 desimal.

#### KESIMPULAN

Makin tinggi suhu inkubasi, makin tinggi pH optimum untuk pertumbuhan *S. typhimurium*. Dosis 0,45 kGy dapat menurunkan jumlah koloni bakteri *S. typhimurium* sebesar 5 desimal baik pada suhu 30°, 37°, dan 42°C dengan variasi pH media 6, 7, dan 8. *S. typhimurium* lebih peka terhadap iradiasi pada media suspensi sel dibandingkan dalam homoge-

nat tinja.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. WATANABE, H., and TAKEHISA, M., Disinfection of sewage sludge cake by gamma irradiation, *Radiation Phys. Chem.* 24 1 (1984) 41.
2. LEWIS, N.F., "Scope for utilizing gamma radiation for microbiological control of sewage waste in India", *Radiation for a Clean Environment (Proc. of a Symp. Munich, 1975)*, IAEA, Vienna (1975) 202.
3. FARRELL, J.B. and STERN, G., "Methods for reducing the infection hazard of waste water sludge", *Radiation for a Clean Environment (Proc. of a Symp. Munich, 1975)*, IAEA, Vienna (1975) 19.
4. HAKSOHUSODO, S., "Enterobacteriaceae dan Pseudomonadales", Buku kuliah UGM, ed. II (1978).
5. SRI POERNOMO (1984), Komunikasi pribadi.
6. SUDJANA, Disain dan Analisis Eksperimen, Penerbit Tarsito, Bandung (1980).
7. ANDINI, L.S. dan HARSOJO, Pengaruh iradiasi pada *Staphylococcus aureus* dalam homogenat tinja dalam TGY cair (PAIR/P.196/1986), Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jakarta (1986).

Tabel 1. Jumlah koloni per ml suspensi *S. typhimurium* karena pengaruh iradiasi, pH, dan suhu.

Dosis (kGy) (D)	pH (K) 6			pH (K) 7			pH (K) 8			Rata-rata (R)
	Suhu (S) (°C)			Suhu (S) (°C)			Suhu (S) (°C)			
	30	37	42	30	37	42	30	37	42	
0	7,87	7,56	7,86	7,71	7,73	8,10	7,81	7,78	7,81	7,80
0,15	6,72	6,64	6,74	6,60	6,17	6,12	6,80	6,75	6,71	6,58
0,30	5,26	5,04	5,01	4,62	5,19	3,87	5,10	4,79	5,13	4,89
0,45	2,89	3,03	3,12	1,92	2,12	3,01	2,69	2,79	3,08	2,73
Rata-rata (KS)	5,69	5,57	5,68	5,21	5,30	5,28	5,60	5,53	5,68	
Rata-rata (S)		5,50			5,46			5,54		
Rata-rata (K)		5,64			5,26			5,60		
BNJ <sub>R</sub> 5% = 0,14	BNJ <sub>KS</sub> 5% = 0,26			BNJ <sub>S</sub> 5% = 0,11			BNJ <sub>K</sub> 5% = 0,11			

Tabel 2. Nilai F hasil analisis sidik ragam jumlah koloni per ml karena pengaruh iradiasi, suhu, dan pH.

Sumber variasi	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel</sub>	
		5%	1%
pH (K)	37,3246 **	3,13	4,92
Suhu (S)	1,3673 tn	3,13	4,92
Iradiasi (R)	3088,7986 **	2,74	4,08
KS	1,1090 tn	2,50	3,60
KD	6,5758 **	2,32	3,07
SD	9,9763 **	2,32	3,07
KSD	6,6564 **	1,89	2,45

\*\* = Berbeda nyata pada P < 1%  
tn = Tidak berbeda nyata

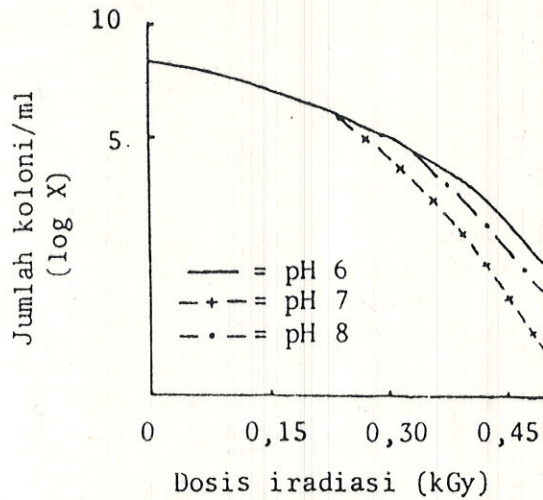
Tabel 3. Jumlah koloni per ml suspensi *S. typhimurium* (log) karena pengaruh media serta iradiasi.

Dosis (kGy)	Media			Rata-rata (D)	
	SS	MacConkey	XLD		
0	10,1626	10,2173	10,2178	10,1992	
0,5	9,9476	9,9580	9,8410	9,9155	BNJ <sub>D</sub> = 0,1940
1,0	10,1219	10,1860	10,0759	10,1279	BNJ <sub>M</sub> = 0,1120
1,5	9,9510	9,9805	9,9821	9,9712	
2,0	10,0323	9,9550	9,9043	9,9639	BNJ <sub>MD</sub> = 0,4168
2,5	9,9364	9,9140	9,8544	9,9016	
Rata-rata (M)	10,0253	10,0351	9,9793		

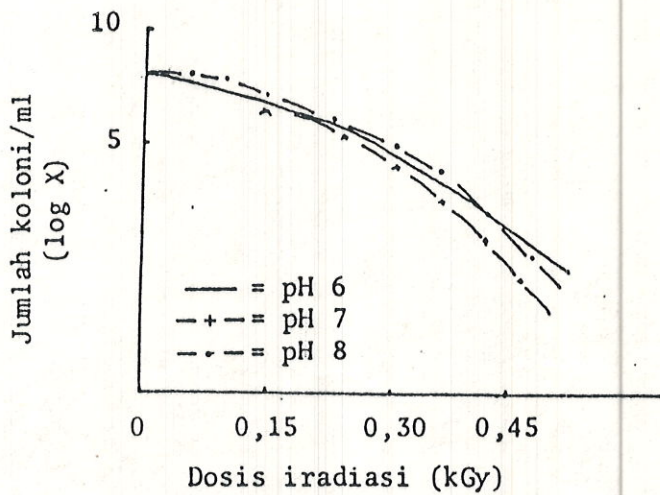
Tabel 4. Nilai F hasil analisis sidik ragam jumlah koloni per ml karena pengaruh iradiasi dan macam media pada *S. typhimurium*.

Sumber	F <sub>hitung</sub>	F <sub>tabel</sub>	
		5%	1%
Iradiasi (D)	6,80 **	2,35	3,37
Media (M)	0,82 tn	3,17	5,01
Interaksi (DM)	0,28 tn	2,00	2,66

\*\* = Berbeda nyata pada P < 1%  
tn = Tidak berbeda nyata

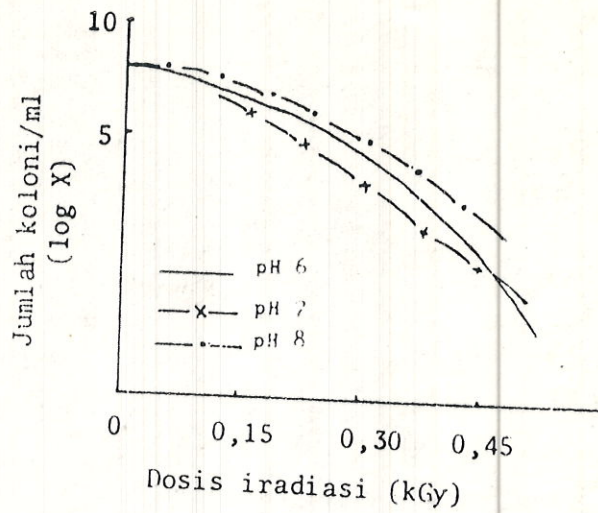


Gambar 1. Pengaruh pH terhadap daya tahan *S. typhimurium* pada suhu inkubasi 30°C.

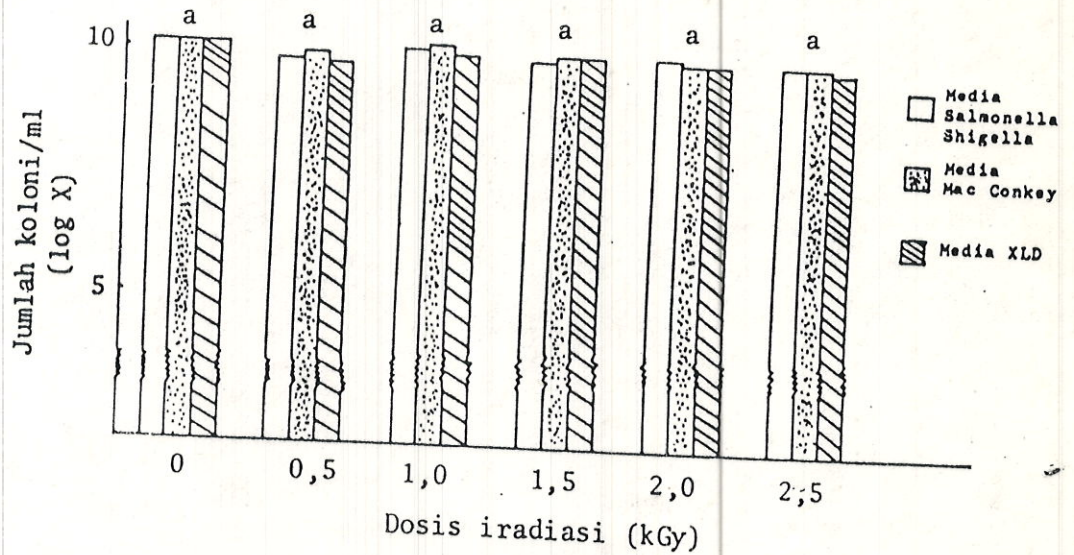


Gambar 2. Pengaruh pH terhadap daya tahan *S. typhimurium* pada suhu inkubasi 37°C.





Gambar 3. Pengaruh pH terhadap daya tahan *S. typhimurium* pada suhu inkubasi 42°C.



Gambar 4. Pengaruh iradiasi terhadap *S. typhimurium* pada media SS, Mac Conkey, dan XLD. Huruf yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata.

## DISKUSI

ZAINAL ABIDIN :

Kalau tidak salah, dosis iradiasi untuk sludge untuk pemanfaatan sebagai pupuk, diperlukan dosis lebih dari 0,45 kGy. Mengapa masih dilakukan uji daya tahan bakteri *S. typhimurium* pada dosis penyinaran maksimum 0,45 kGy ?

HARSOJO :

Untuk mengetahui dosis letal pada bakteri patogen untuk membunuhnya. Kita tidak perlu menghilangkan semua bakteri di dalam sludge, kecuali yang patogen, seperti *Salmonella*. Dosis 0,45 kGy ini untuk cairan suspensi *S. typhimurium*, sedangkan untuk homogenat dengan konsentrasi tinggi diperlukan dosis yang lebih tinggi.

DARMAWAN :

1. Berapa pH optimal untuk pertumbuhan *S. typhimurium* suhu 30°C ?
2. Mengapa pada pH 6 *S. typhimurium* lebih tahan terhadap radiasi dibanding pH 7 dan 8 pada suhu 30°C ?
3. Apakah ada perubahan pH sesudah

iradiasi ?

HARSOJO :

1. pH 6.
2. Penyebabnya belum diketahui, sehingga masih perlu dipelajari mekanismenya.
3. Tidak ada perubahan pH, iradiasi tidak mempengaruhi pH.

SRI POERNOMO :

Mengapa dalam penelitian ini Anda menggunakan homogenat tinja dan perlakuan dosis berbeda antara suspensi kuman dan homogenat tinja ?

HARSOJO :

Karena ingin mengetahui bila *Salmonella* terdapat dalam homogenat tinja, berapa dosis iradiasi yang diperlukan untuk membunuhnya. Dalam homogenat tinja terdapat banyak protein, asam lemak, dan lain-lain yang bertindak sebagai protective agent terhadap bakteri sehingga diperlukan dosis yang lebih tinggi daripada dalam suspensi sel untuk membunuhnya.