

Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan *Salmonella typhi* In Vitro

Hanna*, Endah Tyasrini*, Hana Ratnawati**

*Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

**Bagian Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha

Abstrak

Salmonella typhi merupakan salah satu penyebab penyakit infeksi tersering di daerah tropis. Manusia terinfeksi *Salmonella typhi* secara fecal-oral, biasanya melalui makanan yang kurang higienis dan atau kurang masak. *Salmonella typhi* pertama-tama menginfeksi Peyer's patches pada ileum dan untuk mencapai ileum *Salmonella typhi* harus melalui gaster yang mempunyai pH antara 1,4 – 1,6. Pada umumnya, *Salmonella typhi* akan mati pada pH gaster yang rendah tersebut.

Penelitian ini bersifat eksperimental dan bertujuan untuk mengetahui pH minimum di mana *Salmonella typhi* dapat hidup dan mengetahui pengaruh pH terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*. Suspensi *Salmonella typhi* berumur 18 – 24 jam dengan pengenceran 1/1.000.000 ditanamkan pada medium SS agar dengan pH 2,5 – 8 menggunakan metoda streak plate, kemudian diinkubasi selama 24 jam. pH medium diatur dengan menambahkan HCl pekat atau NaOH 2N ke dalam SS agar cair. Jumlah kuman yang tumbuh dihitung dalam colony forming unit (cfu) dikalikan faktor pengenceran, diambil rata-ratanya, kemudian dibandingkan dengan rata-rata jumlah kuman pada kontrol positif.

Hasil penelitian menunjukkan tidak ada *Salmonella typhi* yang tumbuh pada medium dengan pH 2,5 dan 3. Rata-rata jumlah kuman pada medium dengan pH 3,5 adalah 30.333.333, pH 4 = 35.000.000, pH 5 = 44.666.667, pH 6 = 75.666.667, pH 7 = 71.000.000 dan pH 8 = 66.000.000. Rata-rata jumlah kuman pada medium kontrol positif adalah 50.666.667.

Disimpulkan bahwa *Salmonella typhi* mulai dapat tumbuh pada pH 3,5 dan pertumbuhannya menunjukkan peningkatan dari pH 3,5–6 serta tumbuh optimal pada pH 6–8.

Kata kunci : *Salmonella typhi*, pH

Pendahuluan

Salmonella typhi adalah bakteri gram negatif batang yang menyebabkan demam tifoid. *Salmonella typhi* merupakan salah satu penyebab infeksi tersering di

daerah tropis, khususnya di tempat-tempat dengan higiene yang buruk. (Brook, 2001).

Manusia terinfeksi *Salmonella typhi* secara fecal-oral. Tidak selalu *Salmonella typhi* yang masuk

ke saluran cerna akan menyebabkan infeksi karena untuk menimbulkan infeksi, *Salmonella typhi* harus dapat mencapai usus halus. Salah satu faktor penting yang menghalangi *Salmonella typhi* mencapai usus halus adalah keasaman lambung. Bila keasaman lambung berkurang atau makanan terlalu cepat melewati lambung, maka hal ini akan memudahkan infeksi *Salmonella typhi*. (Salyers & Whitt, 2002).

Patogenesis Infeksi *Salmonella typhi*

Setelah masuk ke saluran cerna dan mencapai usus halus, *Salmonella typhi* akan ditangkap oleh makrofag di usus halus dan memasuki peredaran darah, menimbulkan bakteremia primer. Selanjutnya, *Salmonella typhi* akan mengikuti aliran darah hingga sampai di kandung empedu. Bersama dengan sekresi empedu ke dalam saluran cerna, *Salmonella typhi* kembali memasuki saluran cerna dan akan menginfeksi *Peyer's patches*, yaitu jaringan limfoid yang terdapat di ileum, kemudian kembali memasuki peredaran darah, menimbulkan bakteremia sekunder. Pada saat terjadi bakteremia sekunder, dapat ditemukan gejala-gejala klinis dari demam tifoid. (Salyers & Whitt, 2002).

Pengaruh pH Lingkungan terhadap Metabolisme Bakteri

Bakteri mempunyai mekanisme yang dapat mempertahankan pH intrasel sehingga mendekati pH netral. Mekanisme ini disebut *pH homeostasis*. *pH homeostasis* terdiri atas homeostasis pasif dan homeostasis aktif.

Homeostasis pasif terjadi karena permeabilitas membran sel yang sangat rendah terhadap H^+ dan ion-ion lainnya dan karena tingginya kapasitas sitoplasma sebagai *buffer*, yang merupakan peranan gugus fosfat dari DNA dan RNA serta asam amino yang mempunyai kemampuan bereaksi dengan asam dan basa. Pada bakteri asidofilik, permeabilitas membran sel terhadap H^+ demikian rendahnya sehingga pH intrasel dapat tetap netral pada lingkungan dengan pH sangat rendah.

Homeostasis aktif terjadi karena peranan tiga sirkuit ion, yaitu sirkuit proton, sirkuit kalium dan sirkuit natrium. Sirkuit natrium terutama berperan pada pH lingkungan yang tinggi (basa). Sirkuit kalium dan sirkuit proton berperan pada pH lingkungan yang rendah. Bila pH lingkungan turun, H^+ yang memasuki sel cenderung lebih banyak. Gerakan H^+ melalui membran sel dapat dicegah dengan masuknya kation lain melalui membran sel, dalam hal ini kation tersebut adalah kalium (K^+) yang masuk melalui sirkuit kalium. Sirkuit proton terdiri dari *proton pump* dan *ATP synthase* yang berperan pada proses transpor elektron dan pembentukan energi.

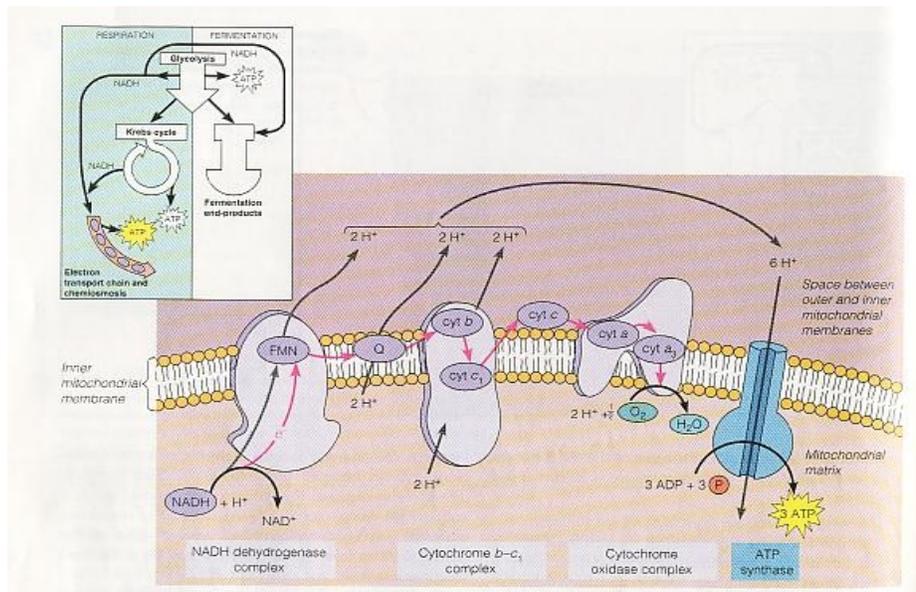
pH lingkungan di luar sel mempengaruhi pertumbuhan bakteri karena mekanisme *pH homeostasis* hanya dapat bekerja pada *range* pH lingkungan yang terbatas.

Pada keadaan normal, jumlah H^+ yang masuk ke dalam sel sama dengan jumlah H^+ yang dipompa keluar dari sel oleh *proton pump*. Pada pH lingkungan yang sangat rendah, konsentrasi H^+ yang sangat tinggi di lingkungan menyulitkan *proton pump* untuk memompa H^+ keluar sel pada proses transpor elektron. Hal ini menyebabkan akumulasi H^+ di sitoplasma sehingga terjadi penurunan pH intrasel yang menyebabkan gradien pH menjadi sempit atau hilang.

Hal ini mengakibatkan turunnya *proton motive force* sehingga proses pembentukan ATP oleh sel dan transpor zat - zat ke dalam sel melalui mekanisme *symporter* terganggu. (Tortora, 1998; Salyers & Whitt, 2002). (Lihat Gbr 1).

Bahan dan Cara

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha dari bulan Maret 2003 – Juli 2003. Bahan yang dipakai adalah: suspensi kuman *Salmonella typhi* dari laboratorium, *Salmonella-Shigella* Agar (SS agar), larutan NaCl 0,9%, HCl pekat, NaOH 2N



Gbr 1. Proses Transpor Elektron (Tortora, 1998)

1. Cara kerja pembuatan medium dengan berbagai pH:
 - Untuk masing-masing pH dibuat medium terpisah.

- Campuran bubuk SS agar dan aquadest diukur pH-nya. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan HCl pekat atau NaOH 2N hingga mencapai pH 2,5; 3; 3,5; 4; 5; 6; 7 dan 8.
 - Setelah masing-masing pH diukur, campuran dilarutkan dengan cara dipanaskan hingga mendidih.
 - Medium disterilkan dengan *autoclave* (170°C) selama 30 menit, kemudian dituangkan ke dalam cawan Petri.
 - Masing-masing pH dibuat 3 (tiga) cawan Petri medium.
2. **Cara kerja pengenceran suspensi kuman:**
- Larutan NaCl 0,9% dimasukkan ke dalam tabung I sebanyak 9,9 ml, tabung II sebanyak 9,9 ml dan tabung III sebanyak 9 ml.
 - 0,1 ml suspensi kuman ditambahkan pada tabung I, diperoleh pengenceran 1/100
 - 0,1 ml suspensi kuman dari tabung I ditambahkan pada tabung II, diperoleh pengenceran 1/10.000.
 - 1 ml suspensi kuman dari tabung II ditambahkan pada tabung III, diperoleh pengenceran 1/100.000.
3. **Cara kerja pengujian pengaruh pH medium terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi*:**
- 0,1 ml suspensi kuman dengan pengenceran 1/100.000 ditanamkan pada medium dengan pH 2,5; 3; 3,5; 4; 5; 6; 7 dan 8 dengan metoda *spread plate*.
 - Medium yang sudah ditanami kuman diinkubasi selama 18-24 jam, kemudian jumlah koloni yang terbentuk pada masing-masing medium dihitung.
 - Kontrol positif dibuat dengan menanamkan suspensi kuman pada medium yang tidak ditambahkan NaOH & HCl, sedangkan kontrol negatif dibuat dengan tanpa menanamkan suspensi kuman pada medium yang tidak ditambahkan NaOH & HCl.
- Masing-masing percobaan dilakukan sebanyak 3 kali. Untuk mengetahui pH dimana *Salmonella typhi* mulai tumbuh dan untuk mengamati pengaruh pH terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* maka hasil penghitungan jumlah koloni dari masing-masing pH dibandingkan dengan kontrol positif.
- Hasil dan Pembahasan**
- Dari penelitian pendahuluan menunjukkan data jumlah koloni kuman yang dapat digunakan adalah pada pengenceran 1/1.000.000, dengan jumlah koloni berkisar antara 30 - 300 sehingga

penelitian menggunakan pengenceran $1/1.000.000$.

Kontrol positif digunakan sebagai standar pertumbuhan yang optimum. Pertumbuhan *Salmonella typhi* dianggap optimum bila jumlah rata-rata koloni yang tumbuh lebih banyak dari jumlah koloni pada kontrol positif.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada pH 2,5 - 3 *Salmonella typhi* tidak dapat tumbuh dan mulai dapat tumbuh pada pH 3,5. Hal ini membuktikan bahwa *Salmonella typhi* akan mati dalam

getah lambung yang normal dengan pH 1,4 - 1,6.

Dari hasil penelitian didapatkan peningkatan pertumbuhan *Salmonella typhi* pada pH 3,5 - 6 dan tumbuh optimal pada pH 6 - 8. Hasil ini menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* tidak dapat hidup optimal pada suasana asam.

Hal ini berarti risiko terinfeksi *Salmonella typhi* bertambah besar dengan makin tingginya pH lambung, terlebih jika pH lambung naik sampai lebih besar dari 6.

Tabel 1. Pertumbuhan *Salmonella typhi* pada Medium dengan Berbagai pH (Pengenceran $1/1.000.000$)

No.	pH	Jumlah kuman yang tumbuh (10^6)			
		Percobaan 1	Percobaan 2	Percobaan 3	Rata-rata
1	2,5	0	0	0	0
2	3	0	0	0	0
3	3,5	30	31	30	30,33
4	4	36	34	35	35
5	5	38	51	45	44,67
6	6	91	65	73	76,33
7	7	80	58	67	68,33
8	8	75	59	64	66
9	Kontrol (-)	0	0	0	0
10	Kontrol (+)	48	53	51	50,67

Kesimpulan

pH berpengaruh terhadap pertumbuhan *Salmonella typhi* *in vitro*, dimana pada pH 3 tidak didapatkan pertumbuhan dan tumbuh optimal pada pH 6 - 8

Saran

Diperlukan penelitian mengenai obat-obatan yang dapat menaikkan pH lambung seperti anatasida dan *H2-blocker*, terhadap risiko terinfeksi *Salmonella typhi*.

Daftar Pustaka

- Alcamo I.E. 1994. *Fundamentals of Microbiology*. 4th ed. Canada: Benjamin/ Cummings. p. 540.
- Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A. 2001. *Medical Microbiology*. 22nd ed. USA: Appleton & Lange. p. 219, 225 - 227.
- Hajmeer M. 2001. <http://www.vetmed.ucdavis.edu/PHR/phr150/2001/15001b6.pdf>. p.11.
- Lengeler J.W., Drews G., Schlegel H.G. 1999. *Biology of Prokaryote*. New York: Delmar Publisher. p. 660 - 664.
- Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J. 2000. *Biology of Microorganism*. 9th ed. New Jersey: Prentice Hall Inc. p. 53 - 65, 123 - 125, 142 - 143.
- Martin D.W., Rodwell V.W., Granner D.K., Mayes P.A. 1987. *Biokimia Harper*. Edisi 20. Jakarta: EGC. p. 89.
- Nochiri E. 1975. *Medical Microbiology in The Tropics*. London: Oxford University Press. p. 119 - 124.
- Salyers A.A., Whitt D.D. 2002. *Bacterial Pathogenesis*. 2nd ed. Washington: ASM Press. p. 229 - 243.
- Tan Hoan Tjay, Kirana Rahardja. 2002. *Obat - obat Penting*. Edisi 5. Jakarta: Elex Media Komputindo. p. 250 - 252.
- Tortora G.J., Funke B.R., Case C.L. 1998. *Microbiology: An Introduction*. 6th ed. California: Benjamin & Cummings. p. 38 - 39.
- Udin Sjamsudin, Azalia Arif. 1998. Obat Lokal dalam: Sulistia G. Ganiswarna, editor: *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indone-sia. p. 502 - 506.
- _____, Hedi R Dewoto. 1998. Histamin dan Antialergi dalam: Sulistia G. Ganiswarna, editor: *Farmakologi dan Terapi*. Edisi 4. Jakarta: Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indone-sia. p. 256 - 260.

