

Modification Of Carry-Blair Transport Media For Storage *Salmonella typhi*

Yati Supriatin¹, Muqni Rahayyu²

^{1,2} Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih,
Jl.Padasuka Atas No.233, Bandung, 40192, Indonesia.
Email : yatisupriatin@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to determine transport media modification as alternative media to replace Carry Blair. One type of transport media that often use to carry faeces specimens suspected to contain *Salmonella typhi* is Carry-Blair media. Studies have been conducted experimentally by storing *Salmonella typhi* on alternative transport media with Peptone composition, disodium Phosphate, Sodium chloride, Calcium chloride, which is made using a semi-solid and Carry-Blair as a control. Three variety of storage was done (0 hour, 6 hours, 9 hours) at a temperature 4^o-8^oC and then *Salmonella typhi* was inoculated in Salmonella Shigella Agar using spread plate technique incubated during 24 hours at 37^oC, counted the number of colonies by the plate count method using the colony counter. The results of ANOVA could be concluded that modification media could be use as alternative media replace Carry-Blair at 6 hours. Based on regression correlation test was assumed that the *Salmonella typhi* bacteria still life at less than 11 hours 54 minutes.

Key word : Transfort media Carry-Blair, *Salmonella typhi*, Media modification

1. Pendahuluan

Media merupakan bahan yang dapat digunakan sebagai tempat pertumbuhan mikroorganisme seperti bakteri. Beberapa jenis bakteri dapat hidup baik pada media yang sangat sederhana, yang hanya mengandung garam anorganik ditambah sumber karbon organik seperti gula, namun ada pula bakteri yang memerlukan suatu media yang sangat kompleks selain mengandung sumber karbon dan nitrogen juga perlu penambahan darah atau bahan-bahan kompleks lainnya, namun yang terpenting media harus mengandung nutrisi yang merupakan substansi dengan berat molekul rendah dan mudah larut dalam air. Nutrisi dalam media harus memenuhi kebutuhan dasar makhluk hidup [1]. *Carry-Blair* sering digunakan untuk pengumpulan dan pengangkutan sampel feses yang berasal dari dubur untuk menjaga kelangsungan hidup *Salmonella* dan *shigella* dalam feses. Media ini memiliki potensi oksidasi / reduksi rendah, yang menjamin kelangsungan hidup bakteri untuk jangka waktu yang lama. Media *Carry-Blair* merupakan media yang bisa dibuat dengan cara menimbang bubuk media *Carry-Blair* dengan neraca analitik sesuai dengan volume yang akan dibuat. Berdasarkan fungsi dari media *Carry-Blair*, media ini termasuk media transport. Media transport adalah media yang memiliki fungsi untuk melindungi mikroorganisme supaya tetap hidup selama perjalanan apabila pemeriksaan terpaksa ditunda. Semua spesimen yang memerlukan pengiriman lebih dari satu jam harus menggunakan media ini dan proses pengiriman menggunakan *cool box* pada suhu 4-8^oC. Standar waktu penyimpanan pada media transport adalah 6-8 jam. Jika dilihat dari

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM

(www.teknolabjournal.com)

Vol.5, No.2, September 2016, pp. 72 - 73

ISSN: 2338 – 5634 (print)

konsistensi/kepadatannya media *Carry-Blair* termasuk media semi solid (setengah padat) karena mengandung Agar pada komposisi media yang cukup rendah berkisaran 0,3%-0,4%. Media semi solid ini dibuat untuk tujuan supaya pertumbuhan bakteri dapat menyebar keseluruh media tetapi tidak terjadi pencampuran sempurna jika tergoyang saat proses transportasi spesimen dari satu laboratorium ke laboratorium lain. Komposisi *Carry-Blair* yaitu sodium thioglicolate 1,5 gram berfungsi agar mikroorganisme dapat mengkonsumsi oksigen dan memungkinkan pertumbuhan secara anaerob dalam media, dinatrium fosfat 1,1 gram sebagai sumber nutrisi bagi mikroorganisme, natrium klorida 5,0 gram untuk mempertahankan kesetimbangan osmotik media, agar 5,0 gram adalah agen yang memperkuat media, kalsium klorida 1% 1,0 gram sebagai mengatur kadar air dalam media [2].

Tujuan penelitian ini ialah membuat media transport alternatif *Carry-Blair* dengan menggunakan Pepton, Natrium Klorida, Dinatrium fosfat, Kalsium klorida dan Agar yang dibuat semi solid bertujuan untuk mengamati apakah *Salmonella typhi* mampu bertahan pada saat dilakukan penyimpanan spesimen dengan variasi waktu 0 jam, 6 jam, dan 9 jam. Pepton mengandung protein dari jaringan hewan dan tumbuhan yang telah mengalami hidrolisis atau telah mengalami pemutusan ikatan menjadi asam amino dan peptida sebagai sumber nitrogen bagi organisme, pepton dapat berupa meat pepton atau pun non pepton karenanya pepton digunakan sebagai nutrisi media dalam bakteriologi. Media alternatif ini dibuat agar dapat digunakan sebagai pengganti media transport *Carry-Blair*.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan secara eksperimen yang menggunakan dua kelompok yaitu kelompok kontrol dan kelompok eksperimen. Kelompok control dilakukan dengan menyimpan *Salmonella typhi* pada media Carry Blair dengan 3 variasi waktu yaitu 0 jam, 6 jam dan 9 jam pada suhu 4-8⁰C, lalu diinokulasikan pada media Salmonella Shigella Agar secara *spread plate* selama 24 jam 37⁰C lalu dihitung koloni metode *plate count* dengan *Colony counter*. Kelompok eksperimen dengan menyimpan *Salmonella typhi* pada media modifikasi dengan 3 variasi waktu yaitu 0 jam, 6 jam dan 9 jam pada suhu 4-8⁰C, lalu diinokulasikan pada media Salmonella Shigella Agar secara *spread plate* selama 24 jam 37⁰C untuk dihitung koloninya metode *plate count* dengan *Colony counter*. Analisis data jumlah koloni dilakukan dengan metode ANAVA one way dengan uji lanjut Duncan. Komposisi media modifikasi terdiri dari peptone 2,5 gram, Dinatrium fosfat 0,275 gram, Natrium klorida 1,25 gram, Kalsium klorida 0,25 gram, Agar Agar batang 0,005 gram. *Salmonella typhi* yang digunakan berusia 24 jam dengan kerapatan 0,5 Mc.Farland.

2.1 Pembuatan Media Carry-Blair

Ditimbang serbuk Carry-Blair 3,325 gram. Dipindahkan dalam labu erlemeyer, lalu ditambahkan aquades 250 mL. Dihomogenkan larutan dengan bantuan pemanas dan pengadukan. Dicek pH larutan sesuai dengan petunjuk media (pH 7,3 ± 0,1). Disterilkan dalam otoklaf suhu 121⁰C selama 15 menit. Dibagi atau dimasukkan kedalam tabung reaksi atau botol vial (± 2/3 bagian tabung). Disimpan pada suhu 4⁰C-8⁰C. Media dibuat semi solid.

2.2 Pembuatan Media Modifikasi Carry Blair

Ditimbang pepton 2,5 gram, Dinatrium fosfat 0,275 gram, Natrium klorida 1,25 gram, Kalsium klorida 0,25 gram, Agar batang 0,005 gram. Dilarutkan dalam 250 mL aquades. Dihomogenkan larutan dengan bantuan pemanasan dan

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM

(www.teknolabjournal.com)

Vol.5, No.2, September 2016, pp. 72 - 73

ISSN: 2338 – 5634 (print)

pengadukan. Disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Dibagi atau dimasukkan kedalam tabung reaksi atau botol vial (\pm 2/3 bagian tabung). Biarkan media membeku sempurna dan simpan pada suhu 4°C-8°C.

2.3 Inokulasi *Salmonella typhi* Pada media modifikasi

Salmonella typhi yang digunakan kerapatan 0,5 McFarland. Diambil suspensi *Salmonella typhi* dari pengenceran 10⁻⁸ dengan kapas lidi steril. Dimasukkan kapas lidi steril kedalam media transport alternatif dengan cara ditusuk jangan sampai kedasar tabung. Disimpan sampel pada media transport alternatif dalam lemari pendingin dengan variasi waktu penyimpanan 0 jam, 6 jam, 9 jam dengan suhu 4°C-8°C. diuji pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan menginokulasikan bakteri dari media modifikasi ke media Salmonella Shigella Agar dengan teknik *spread plate*. Diinkubasi pada inkubator 1x24 jam suhu 37°C. dihitung jumlah koloni *Salmonella typhi* menggunakan *coloni counter* metode *Plate count*.

2.4 Pembuatan Media Salmonella Shigella Agar

Ditimbang media SS Agar 31,5 gram. Dipindahkan serbuk SS Agar kedalam labu erlemeyer lalu larutkan dengan 500 mL aquades. Dihomogenkan larutan dengan bantuan pemanasan dan pengadukan. Dibagi atau dimasukkan kedalam cawan petri. Dibiarkan media membeku sempurna. Disimpan pada suhu 4°C-8°C untuk penyimpanan media.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Hasil Penelitian

Data jumlah koloni *Salmonella typhi* (CFU/mL) disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Rata-Rata Jumlah Koloni *Salmonella typhi* (CFU/mL)

Waktu(jam)	Media Modifikasi	Media Kontrol Carry Blair
0	0	0
6	22	34
9	11	21

Hasil uji Anova one way disajikan dalam tabel 2.

Tabel 2. ANOVA One way

	Jumlah Kuadrat	Derajat kebebasan	Kuadrat rata-rata	F	Signifikan
Perlakuan Media	2102.344	3	700.781	4.957	.007
Galat/Error	3958.625	28	141.379		
Total	6060.969	31			

Berdasarkan uji ANOVA diketahui bahwa nilai sig (0,007) < 0,05 artinya Ho ditolak dan H1 diterima, kesimpulannya terdapat perbedaan yang signifikan antara perlakuan media. Untuk mengetahui variable yang paling baik maka dilakukan uji lanjut

Tabel 3. Hasil Uji Lanjut LSD

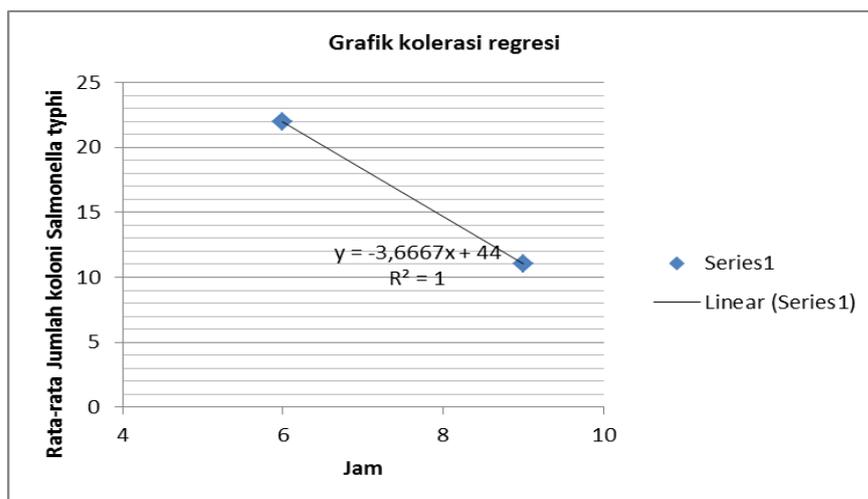
LSD	(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Perbedaan rata-rata		Sig.	95% kepercayaan interval	
			(I-J)	Std. Error		Batas bawah	Batas atas
LSD	Kontrol 6 jam	Kontrol 9 jam	12.75000*	5.94515	.041	.5719	24.9281
		Alternatif 6 jam	12.00000	5.94515	.053	-.1781	24.1781
		Alternatif 9 jam	22.87500*	5.94515	.001	10.6969	35.0531
	Kontrol 9 jam	Kontrol 6 jam	-12.75000*	5.94515	.041	-24.9281	-.5719
		Alternatif 6 jam	-.75000	5.94515	.901	-12.9281	11.4281
		Alternatif 9 jam	10.12500	5.94515	.100	-2.0531	22.3031
	Alternatif 6 jam	Kontrol 6 jam	-12.00000	5.94515	.053	-24.1781	.1781
		Kontrol 9 jam	.75000	5.94515	.901	-11.4281	12.9281
		Alternatif 9 jam	10.87500	5.94515	.078	-1.3031	23.0531
	Alternatif 9 jam	Kontrol 6 jam	-22.87500*	5.94515	.001	-35.0531	-10.6969
		Kontrol 9 jam	-10.12500	5.94515	.100	-22.3031	2.0531
		Alternatif 6 jam	-10.87500	5.94515	.078	-23.0531	1.3031

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Berdasarkan keseluruhan uji ANOVA satu arah dan uji lanjut yang dilakukan bahwa media transport *Carry-Blair* alternatif 6 jam dapat digunakan sebagai pengganti media *Carry-Blair*, karena jumlah rata-rata koloni *Salmonella typhi* pada media transport *Carry-Blair* modifikasi 6 jam tidak berbeda signifikan dengan rata-rata koloni media transport *Carry-Blair* control.

3.1.1 Uji Regresi

Uji regresi dilakukan untuk mengasumsikan waktu maksimal *Salmonella typhi* masih dapat bertahan hidup pada media transport modifikasi.



Grafik 1 Uji signifikan menggunakan kolerasi regresi dari media modifikasi

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM

(www.teknolabjournal.com)

Vol.5, No.2, September 2016, pp. 72 - 73

ISSN: 2338 – 5634 (print)

Berdasarkan grafik 1 diketahui bahwa semakin lama waktu kontak pada media modifikasi semakin menurun jumlah koloni *Salmonella typhi*, penurunan jumlah koloni yang signifikan ditandai dengan nilai korelasi ($r = 1$), maka apabila diasumsikan jumlah koloni *Salmonella typhi* adalah "0" pada persamaan regresi $y = -3,6667x + 44$ maka hasilnya adalah 11 jam 54 menit. Dapat disimpulkan bahwa *Salmonella typhi* masih dapat hidup sampai 11 jam 54 menit.

3.2 Pembahasan

Media transport merupakan media setengah padat (*semi solid*) yang digunakan untuk penyimpanan spesimen dengan kisaran waktu lebih dari 1 jam, yang disimpan pada suhu 4°C - 8°C [2]. Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa jumlah koloni *Salmonella typhi* berbanding terbalik terhadap waktu, semakin lama waktu penyimpanan maka Jumlah koloni semakin sedikit. Hal ini membuktikan bahwa nutrisi pada media transport semakin sedikit karena dikonsumsi bakteri untuk bertahan hidup selama waktu penyimpanan. Media ini hanya mengandung buffer dan mineral yang sedikit atau hampir tidak mengandung karbon, nitrogen, dan faktor pertumbuhan organik untuk mencegah multiplikasi dari mikroorganisme [3]. Dari tabel 1 juga diketahui bahwa *Salmonella typhi* dapat bertahan hidup pada media transport modifikasi walaupun jumlah koloni masih relative lebih sedikit jika dibandingkan dengan media Carry-Blair sebagai control, *Salmonella typhi* dapat tumbuh pada media transport modifikasi dengan memanfaatkan pepton sebagai sumber nitrogen. Penguraian bahan-bahan tersebut dapat dilakukan dengan suatu senyawa asam atau berupa enzim. Pepton mempunyai kemampuan berbeda dalam menunjang pertumbuhan bakteri tergantung jenis protein yang digunakan dan proses ekstraksinya sehingga tidak menghambat pertumbuhan *Salmonella typhi* meskipun telah dilakukan penyimpanan selama 9 jam [4].

Sebagaimana diketahui bahwa peran utama nutrient adalah sebagai sumber energi, bahan pembangun sel dan sebagai asektor elektron dalam reaksi bioenergenik (reaksi yang menghasilkan energi). Oleh karenanya bahan makanan harus terdiri dari air, sumber karbon, sumber asektor elektron, sumber mineral, faktor pertumbuhan, dan nitrogen [5]. Menurut Wibowo (2012) Faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri adalah faktor zat gizi berupa sumber nutrisi yang berasal dari zat kimawi (karbohidrat, karbondioksida & beberapa unsur logam), pH, suhu, waktu, ketersediaan osmotik, dan kelembaban. Pada umumnya bakteri membutuhkan pH sekitar netral yaitu 7. Mengingat sifat bakteri juga sama seperti sifat-sifat sel yang lain terdapat tekanan osmosis maka untuk pertumbuhannya bakteri membutuhkan media yang isotonis. Bila media tersebut hipertonis, maka bakteri akan mengalami plasmoptysis. Sedangkan bila media tersebut hypotonis maka akan terjadi plasmolysis. Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal bakteri membutuhkan temperatur tertentu, umumnya bakteri patogen membutuhkan temperatur sekitar 37°C sesuai dengan temperatur tubuh [6]

Berdasarkan grafik korelasi regresi dapat diasumsikan bahwa *Salmonella typhi* masih dapat bertahan hidup sampai 11 jam 54 menit, artinya diharapkan sampel harus segera diperiksa sebelum 11 jam 54 menit agar masih dapat diketahui keberadaan bakteri yang akan diperiksa.

JURNAL TEKNOLOGI LABORATORIUM

(www.teknolabjournal.com)

Vol.5, No.2, September 2016, pp. 72 - 73

ISSN: 2338 – 5634 (print)

4. SIMPULAN

Berdasarkan keseluruhan uji ANOVA satu arah dan uji lanjut yang dilakukan bahwa media transport *Carry-Blair* modifikasi dengan waktu penyimpanan *Salmonella typhi* 6 jam dapat digunakan sebagai pengganti media *Carry-Blair*, karena diperoleh jumlah rata-rata koloni yang tidak berbeda signifikan dengan rata-rata koloni media transport *Carry-Blair* kontrol,

5. Daftar Pustaka

- [1] Wheeler and Volk, *Dasar - Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Erlangga, 1993.
- [2] G. Tefera and J. Smola, "Modification of Cary-Blair Transport Medium for *Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica*," 2002. .
- [3] U. Suryawiria, *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Bandung: Angkasa, 1995.
- [4] Pelzcar and Chan, *Dasar - Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI-Press, 1986.
- [5] L. Waluyo, *Mikrobiologi Umum*. Malang: Universitas Muhamadiyah Malang Press, 2005.
- [6] I. Kurniati, *Penuntun dan Jurnal Praktikum Bakteriologi (Cetakan 1)*. Bandung: Akademi Analisis Kesehatan Bakti Asih, 2009.