

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Escherichia coli*

*Escherichia coli* merupakan bakteri batang gram negatif, tidak berspora, motil berbentuk flagel peritrik, berdiameter  $\pm 1,1 - 1,5 \mu\text{m} \times 0,2 - 0,6 \mu\text{m}$ . *E. coli* dapat bertahan hidup dimedium sederhana menghasilkan gas dan asam dari glukosa dan memfermentasi laktosa. Pergerakan bakteri ini motil, tidak motil, dan peritrikus, ada yang bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif (Elfidasari et al. 2011).

Klasifikasi bakteri *Escherichia coli*.

Kingdom : Bacteria

Divisi : Proteobacteria

Classis : Gammaproteobacteria

Ordo : Enterobacteriales

Family : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* adalah satu jenis spesies utama bakteri gram negatif fakultatif anaerobic yang mempunyai alat gerak berupa flagel dan tersusun dari sub unit protein yang disebut flagelin, yang mempunyai berat molekul rendah dengan ukuran diameter 12-18 nm dan dengan panjang 12 nm, kaku dan berdiameter lebih kecil dan tersusun dari protein, pili dapat berfungsi sebagai jalan pemindahan DNA saat konjugasi. Selain itu, mempunyai kapsul atau lapisan lendir yang merupakan polisakarida tebal dan air yang melapisi permukaan luar sel (Ikmalia 2008).

Bakteri *E. coli* mempunyai tiga jenis antigen, yaitu antigen O, antigen K dan antigen H. Antigen-O yang merupakan inti dari lipopolisakarida dan unit-unit polisakarida, biasanya antigen-O berhubungan dengan penyakit khusus pada manusia, misalnya tipe spesifik O dari *E. coli* ditemukan pada diare. Antigen-K yang merupakan kapsul dari polisakarida, sedangkan antigen-H merupakan antigen flagella (Wibowo et al. 2008).

## 2.2 Patogenitas

Bakteri *E. coli* adalah salah satu bakteri yang digunakan sebagai indikator adanya kontaminasi *feces* dan kondisi sanitasi yang tidak baik terhadap air, makanan, dan minuman. *E. coli* menjadi patogen jika jumlah bakteri dalam saluran pencernaan meningkat atau berada di luar usus, menghasilkan enterotoksin sehingga menyebabkan terjadinya beberapa infeksi yang berasosiasi dengan enteropatogenik kemudian menghasilkan enterotoksin pada sel epitel. Manifestasi klinik infeksi oleh *E. coli* bergantung pada tempat infeksi dan tidak dapat dibedakan dengan gejala infeksi yang disebabkan oleh bakteri lain (Ismail 2012).

## 2.3 Cara penularan

Bakteri *E. coli* merupakan bagian dari mikrobiota normal saluran pencernaan yang dapat berpindah dari satu tempat ke tempat lainnya, seperti dari tangan ke mulut atau dengan pemindahan pasif lewat minuman yang terkontaminasi dengan bakteri tersebut. Berbagai makanan dan minuman yang dikonsumsi manusia dalam kehidupan sehari-hari tidak lepas dari keberadaan bakteri di dalamnya. Namun, jika makanan dan minuman tersebut diolah

secarahigienis, mungkin bakteri didalamnya masih memiliki batas toleransi untuk dikonsumsi, terutama bakteri patogen penyebab penyakit. Menurut Standar Nasional Indonesia (SNI) keberadaan *E.coli* pada bahan pangan makanan dan minuman berjumlah 0 (nol) koloni dalam 100 ml air (Elfidasari et al. 2011).

## 2.4 Protein pilli

Protein merupakan senyawa makromolekul yang memiliki peranan penting pada setiap makhluk hidup. Protein adalah kumpulan dari beberapa asam amino yang berikatan dengan polipeptida (Katili 2009). Pada sel *E. coli* protein terbagi menjadi 2 (dua) bagian, yaitu protein intraseluler dan protein ekstraseluler. Protein intraseluler adalah protein yang terdapat dalam membran sel, ribosom, dan nukleus. Sedangkan protein ekstraseluler adalah protein yang terdapat dalam dinding sel, membran luar, dan flagel (Ikmalia 2008).

Dilihat dari fungsi dan aktivitas biologisnya protein dibangun oleh susunan dasar polipeptida yang mempunyai bobot molekul yang sangat bervariasi, dari 500 hingga lebih dari satu juta. Protein memiliki berat molekul dan sifat yang berbeda-beda dengan fungsi yang berbeda pula. Ada protein yang larut dalam air, ada pula protein yang tidak larut dalam air. Protein dapat dipisahkan dari molekul lain berdasarkan muatan, ukuran, kelarutan dengan menggunakan SDS-PAGE (Dewi 2013).

Dari analisa SDS-PAGE Perhitungan pita protein dilakukan pada marker dengan perhitungan nilai Rf (*Retardation Factor*). Nilai Rf diperoleh dari pembagian jarak pergerakan protein dari tempat awal dengan jarak pergerakan warna dari tempat awal. Nilai Rf tersebut dan nilai log dari berat molekul (BM)

marker kemudian dimasukkan pada rumus regresi linier dengan rumus  $Y = a + bX$  (Mahasri et al. 2010).

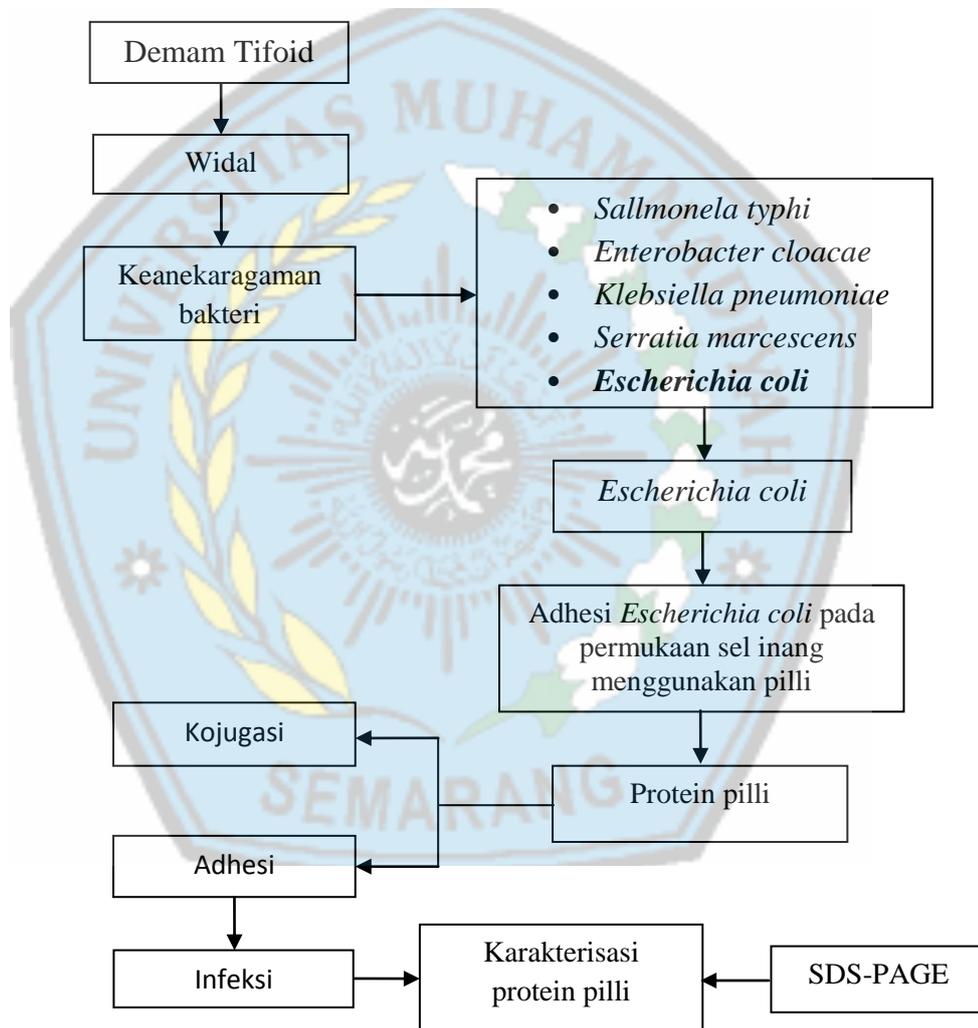
## 2.5 SDS-PAGE

Analisis SDS-PAGE merupakan prosedur dasar dalam banyak aplikasi yang digunakan untuk menganalisis protein. Elektroforesis adalah suatu metode untuk memisahkan makromolekul seperti protein, enzim, dan asam nukleat dibawah pengaruh medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. (Suwarno & Suranto 2010). Pemeriksaan dengan metode SDS-PAGE pada profil protein yang berbeda dapat digunakan untuk mendukung hasil uji morfologi dan biokimia dari berbagai isolat antara lain profil protein pilli. Analisa profil protein menggunakan elektroforesis SDS-PAGE diawali dengan melakukan preparasi sampel protein dengan melakukan isolasi protein bakteri berdasarkan berat molekulnya (Widyarti, 2011).

Membuat gel Polyacrylamide yaitu, siapkan separating gel 12% pada alat SDS-PAGE, Setelah gel membeku tambahkan stacking gel 3%, lalu dimasukkan sisir (comb) pada puncak plate SDS dan ditunggu hingga menjadi gel ( $\pm 30$  menit). Sisir dikeluarkan sehingga terbentuk sumur-sumur pada gel. Kemudian masukkan sampel hasil isolasi sebanyak 10-20  $\mu$ l kedalam lubang sumuran. Pada satu lubang sumuran diisi marker untuk dijadikan patokan skala berat molekul protein. Selanjutnya *plate* yang telah terisi sampel dan marker dimasukkan ke alat BioRad (seperangkat alat gel elektroforesis). Selanjutnya buffer running diisi penuh. Power supply dihidupkan untuk menjalankan proses elektroforesis dengan

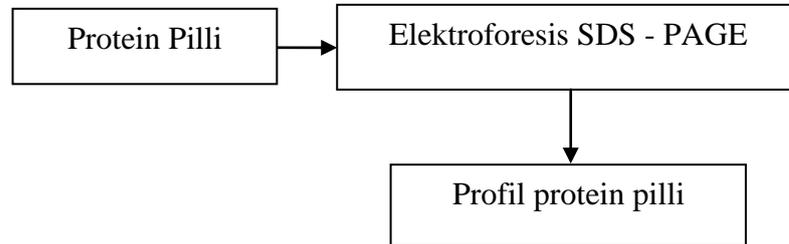
arus listrik sebesar 30mA dengan tegangan 130 volt. Proses pemisahan (running) dihentikan setelah arus berubah menjadi warna biru, gel dilepaskan dari plate, kemudian dilanjutkan staining atau pewarnaan dengan larutan destaining (Suwarno & Suranto 2010).

## 2.6 Kerangka Teori



Gambar 1. Kerangka teori karakterisasi profil protein pilli *E. coli* yang diisolasi dari kultur darah pasien widal positif dengan metode SDS-PAGE.

## 2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2. Kerangka konsep karakterisasi profil protein pilli *E. coli* yang diisolasi dari kultur darah pasien widal positif dengan metode SDS-PAGE.

