

**PROFIL TOTAL PROTEIN BAKTERI *Escherichia coli* ISOLAT
AIR SUMUR GALI DESA WONOSALAM KABUPATEN
DEMAK DENGAN METODE SDS PAGE**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat menyelesaikan
Pendidikan Diploma IV Kesehatan
Program Studi Analisis Kesehatan



Diajukan Oleh :

Rizki Wahyu Putra Widodo

G1C012016

**PROGRAM STUDI D IV ANALIS KESEHATAN
FAKULTAS ILMU KEPERAWATAN DAN KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SEMARANG**

2016

<http://lib.unimus.ac.id>

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan judul “Profil Total Protein Bakteri *Escherichia coli* Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak dengan Metode SDS PAGE” oleh Rizki Wahyu Putra Widodo (NIM : G1C012016).

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan D IV Kesehatan Program Studi Analis Kesehatan.

Telah disetujui oleh :

Pembimbing I



Dr. Sri Darmawati, M.Si

NIK. 28.6.1026.040

Tanggal, 27 September 2016

Pembimbing II



M. Evy Prastiyanto, M.Sc

NIK. 28.6.1026.297

Tanggal, 27 September 2016

Mengetahui,

**Ketua Program Studi DIV Analis Kesehatan
Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan**



Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si, Med


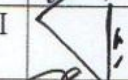

NIK. 28.6.1026.034

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini telah diajukan pada sidang Ujian Jenjang Pendidikan Tinggi Diploma IV Kesehatan Bidang Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

Tanggal Sidang, 29 September 2016

Susunan Tim Penguji

No	Nama	Nara Sumber	Tanda Tangan	Tanggal
1.	Dr. Budi Santosa, SKM, M.Si, Med	Penguji I		28/9 16
2.	Dr. Sri Darmawati, M.Si	Penguji II		27/9 16
3.	M. Evy Prastiyanto, M.Sc	Penguji III		27/9 16

**PROFIL TOTAL PROTEIN BAKTERI *Escherichia coli* ISOLAT AIR
SUMUR GALI DESA WONOSALAM KABUPATEN DEMAK
DENGAN METODE SDS PAGE**

Rizki Wahyu Putra Widodo¹, Sri Darmawati², Muhammad Evy Prastiyanto³

¹Program Studi D IV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang,

²Laboratorium Biologi Molekular Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang,

³Laboratorium Bakteriologi Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang.

ABSTRAK

Protein merupakan senyawa organik kompleks dengan berat molekul yang dapat dilihat dari profil proteinnnya. Setiap spesies *E.coli* memiliki karakteristik dan sifat yang berbeda, sehingga kemungkinan setiap spesies *E. coli* memiliki profil protein yang berbeda pula. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein 13 strain *E. coli* isolat air sumur gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak. Protein didapatkan dengan cara mengisolasi 13 strain *E. coli* dengan metode sonikasi, kemudian diseparasi menggunakan metode SDS PAGE. Hasil analisis profil protein 13 strain *E. coli* isolat air sumur gali menunjukkan jumlah pita protein yang bervariasi antara 6 – 21 pita. Berat Molekul tertinggi yaitu 225 KDa dan terendah yaitu 10 KDa. Hal ini menunjukkan bahwa setiap strain *E. coli* memiliki karakteristik yang berbeda, karena adanya variasi genetik yang dimiliki oleh masing-masing strain.

Kata kunci : *Escherichia coli*, Profil Protein, SDS PAGE.

**TOTAL PROTEIN PROFILE OF BACTERIA *Escherichia coli* ISOLATE
WELL WATER WONOSALAM VILLAGE IN DEMAK REGENCY
WITH SDS PAGE METHOD**

Rizki Wahyu Putra Widodo¹, Sri Darmawati², Muhammad Evy Prastiyanto³

¹Medical Laboratory Study Programe of Health and Nursing Faculty Muhammadiyah University of Semarang,

²Molecular Biologi Laboratory at Health and Nursing Faculty Muhammadiyah University of Semarang,

³Bacteriological Laboratory at Health and Nursing Faculty Muhammadiyah University of Semarang.

ABSTRACT

Proteins are complex organic compounds with a molecular weight that can be seen from the protein profile. Each species of *E.coli* had different characteristics and properties, so maybe each species of *E. coli* had different protein profiles too. The purpose of this research to determine the protein profiles from 13 strains of *E. coli* isolate well water Wonosalam village in Demak Regency. Protein obtained by isolating 13 strains of *E. coli* with sonication methods, then separation using SDS PAGE method. The results of the analysis protein profiles 13 strains *E. coli* isolate well water indicates the amount of protein band varies between 6 - 21 bands. The highest Molecular Weight is 225 KDa and lowest is 10 KDa. This suggests that any strain of *E. coli* have different characteristics, because of their genetic variation possessed by each strain.

Keywords : *Escherichia coli*, Protein Profile, SDS PAGE.

HALAMAN PERNYATAAN ORIGINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar akademik (sarjana), baik di Universitas Muhammadiyah Semarang maupun di perguruan tinggi lain.
2. Skripsi ini murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penguji.
3. Dalam skripsi ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai sumber acuan dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.
4. Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Semarang, 28 September 2016

Yang membuat pernyataan



Rizki Wahyu Putra Widodo

NIM. G1C012016

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat, hidayah dan Inayah-Nya, Sholawat dan salam kepada junjungan kita Baginda Rasulullah SAW beserta keluarga dan para Sahabat-nya. sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Profil Total Protein Bakteri *Escherichia coli* Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak dengan Metode SDS PAGE”.

Penyusunan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan Diploma IV Analis Kesehatan di Universitas Muhammadiyah Semarang 2016.

Penulis menyadari bahwa terselesaikannya Tugas Akhir ini tidak lepas dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terimakasih kepada :

1. Dr. Sri Darmawati, M.Si selaku Pembimbing I beserta M. Evy Prastiyanto, M.Sc selaku Pembimbing II yang telah memberikan waktu untuk memberikan bimbingan, arahan, kritik dan saran serta memotivasi selama penyusunan Skripsi ini,
2. Dra. Sri Sinto Dewi, M.Si. Med selaku Kepala Program Studi DIV Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah Semarang,
3. Asisten laboratorium mikrobiologi yang telah membantu dan memberikan dukungan,
4. Orang tua serta Keluarga yang telah memberikan doa, dukungan moral dan material,
5. Sahabat-sahabat DIV Analis Kesehatan angkatan 2012 terutama Chikita Siwi Dita Alfiany yang selalu memberikan semangat dan dukungan dalam penyusunan Skripsi ini,
6. Seluruh karyawan Universitas Muhammadiyah Semarang dan semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas doa, bantuan moral maupun material dalam penulisan usulan penelitian ini.

Penulis menyadari masih banyak ketidaksempurnaan dalam penulisan tugas akhir ini. Diharapkan adanya kritik dan saran yang membangun. Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Semarang, 22 September 2016

Penyusun



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
ABSTRAK	iv
HALAMAN PERNYATAAN ORIGINALITAS	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	3
1.4. Manfaat Penelitian	3
1.4.1. Bagi Penulis	3
1.4.2. Bagi Masyarakat.....	3
1.4.3. Bagi Universitas	3
1.5. Orisinalitas Penelitian	4
BAB II. KAJIAN PUSTAKA	6
2.1. Air	6
2.2. Sumur Gali	7
2.3. <i>Escherichia coli</i>	8
2.3.1. Karakteristik, Morfologi dan Klasifikasi	8
2.3.2. Sifat Biokimia	9
2.3.3. Patogenitas	10
2.4. Protein	13
2.5. SDS PAGE.....	14

2.6. Alur Teori.....	16
2.7. Alur Konsep	17
BAB III. METODE PENELITIAN	18
3.1. Jenis Penelitian.....	18
3.2. Desain Penelitian.....	18
3.3. Variabel Penelitian	18
3.4. Definisi Operasional.....	18
3.5. Populasi dan Sampel	19
3.6. Obyek Penelitian	19
3.7. Alat dan Bahan.....	19
3.7.1. Alat.....	19
3.7.2. Bahan	19
3.8. Prosedur Penelitian.....	20
3.8.1. Kultivasi bakteri	20
3.8.2. Isolasi Protein <i>Escherichia coli</i>	20
3.8.3. Analisis Protein <i>Escherichia coli</i> Metode SDS PAGE.....	21
3.9. Alur Penelitian	23
3.10. Teknik Pengumpulan Data.....	23
3.11. Tempat dan Waktu Peneliti.....	23
3.12. Ringkasan Prosedur.....	24
3.12.1. Isolasi Protein <i>Escherichia coli</i>	24
3.12.2. Separasi Protein Metode SDS-PAGE	25
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1. Analisis Protein Bakteri <i>Escherichia coli</i>	27
4.2. Hasil Analisis Profil Protein Bakteri <i>Escherichia coli</i>	29
4.3. Pembahasan.....	30
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	32
5.1. Kesimpulan	32
5.2. Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	36

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Tabel 1. Orisinalitas Penelitian.....	4
2. Tabel 2. Hasil Uji Biokimia Bakteri <i>E. coli</i>	10
3. Tabel 3. Berat Molekul 13 Strain <i>Escherichia coli</i> Isolat Air Sumur Gali 28	



DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Gambar 1. Alur Teori	16
2. Gambar 2. Alur Konsep	17
3. Gambar 3. Alur Penelitian Profil Total Protein <i>E. coli</i> Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak	23
4. Gambar 4. Ringkasan Prosedur Isolasi Total Protein <i>Escherichia coli</i> Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak..	24
5. Gambar 5. Alur Separasi Protein Bakteri <i>E. coli</i> Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak dengan Metode SDS PAGE	26
6. Gambar 6. Hasil Elektroforesis SDS PAGE, R1(SG 1A), R2(SG 3C), R3(SG 4A2), R4(SG 5C), R5(SG 7C), R6(SG 8A1), R7(SG9B), R8(SG 10B), R9(SG 11C), R10(SG 12A), R11(SG16A), R12(SG19A), R13(SG 20B).....	29
7. Gambar 7. Visualisasi Representasi Protein 13 Strain Bakteri <i>Escherichia coli</i> Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak.....	29
8. Gambar 8. Reagen Penelitian	58
9. Gambar 9. Alat-alat Penelitian	58
10. Gambar 10. Proses Sonikasi.....	58
11. Gambar 11. Runing Sampel	58
12. Gambar 12. Pelepasan Gel	58
13. Gambar 13. Pengepresan Gel	58

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Lampiran 1. Pembuatan Reagen	36
2. Lampiran 2. Absorbansi dan Perhitungan Konsentrasi Protein.....	40
3. Lampiran 3. Perhitungan Rf Marker dan Rf Sampel.....	42
4. Lampiran 4. Pengukuran Berat Molekul	54
5. Lampiran 5. Dokumentasi	58



BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Air merupakan materi yang sangat penting dalam kehidupan makhluk hidup, seperti tanaman, hewan, dan manusia (Radji et al., 2008). Menurut Shaji et al (2009), tubuh manusia tersusun dari jutaan sel dan sebagian besar sel tersebut mengandung air. Jadi, air merupakan salah satu kebutuhan pokok bagi makhluk hidup untuk kebutuhan sehari-hari dan yang dibutuhkan adalah air yang berkualitas.

Kualitas air dapat ditentukan dengan menggunakan parameter fisika, kimia, mikrobiologi dan parameter indikator pencemar sumber air oleh bakteri *coliform* adalah parameter mikrobiologi (Marwati et al. 2008).

Pada tahun 2002, Departemen Kesehatan Republik Indonesia telah menetapkan tentang kriteria kualitas air secara mikrobiologis, melalui Keputusan Menteri Kesehatan No. 907 tahun 2002 bahwa air minum tidak boleh mengandung bakteri kelompok *coliform*, salah satunya yaitu bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*). Setelah dilakukan uji pendahuluan didapatkan 13 strain bakteri *E. coli* isolat air sumur gali di desa Wonosalam.

Menurut data dari kantor desa Wonosalam, desa Wonosalam memiliki luas wilayah 277,70 ha, dengan penduduk 4273 jiwa, terdiri dari laki-laki 2147 jiwa dan wanita 2126 jiwa. Sumur gali yang ada di desa Wonosalam sebanyak 255 dan hampir semua sumur jaraknya berdekatan dengan *septic tank* ataupun kandang

hewan, yang berpotensi air sumur dapat terkontaminasi oleh rembesan dari septic tank ataupun kotoran dari kandang hewan. Rata-rata warga di desa Wonosalam menggunakan air sumur gali untuk kegiatan seperti mencuci, memasak, mandi dan minum.

Menurut WHO dan *American Public Health Association* (APHA), bakteri *E. coli* adalah bakteri flora normal yang terdapat pada usus manusia dan umumnya bukan pathogen penyebab penyakit, apabila di dalam air terkontaminasi bakteri *E.coli* yang bersifat fekal dan jika di konsumsi terus-menerus dalam jangka waktu yang panjang akan menyebabkan penyakit.

Pada umumnya penyakit yang disebabkan adalah diare, menurut data dari puskesmas desa Wonosalam pada januari 2013 – januari 2016 telah terjadi kasus diare sebanyak 66 kasus.

Bakteri *E. coli* dimungkinkan memiliki karakteristik yang berbeda-beda, maka dari itu untuk mengetahui perbedaan virulensi dan spesifisitas dapat dilihat dari profil proteinnya.

Menurut Edu Surliantara (2014), profil protein flagellin pada strain *E. coli* isolat air, feces, dan darah memiliki pita protein dengan berat molekul yang berbeda, menunjukkan adanya variasi genetik pada gen flagellin yang dimiliki masing-masing strain dan kemungkinan memiliki perbedaan virulensi yang berperan dalam menimbulkan penyakit, untuk melihat profil protein dari bakteri *E.coli* dapat dilakukan dengan menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian profil total protein sel bakteri *E. coli* isolat air

sumur gali di desa Wonosalam Kabupaten Demak untuk mengetahui keanekaragamannya.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan “Bagaimana profil total protein bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak dengan metode SDS PAGE”?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil total protein bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak dengan metode SDS PAGE.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Bagi Penulis

Menambah pengetahuan tentang profil total protein bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali.

1.4.2. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat tentang profil protein bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali.

1.4.3. Bagi Universitas

Menambah kepustakaan bagi akademi dan dapat menjadi referensi untuk penelitian selanjutnya.

1.5 Orisinalitas Penelitian

Tabel 1. Orisinalitas Penelitian

No	Nama (Tahun) dan Judul Penelitian	Metode	Sumber	Hasil
1.	Darmawati,S Anwar,S Artama T W “Analisis Molekuler Protein Pilli untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 strain <i>Salmonella typhi</i> Isolat Jawa”.	SDS-PAGE (<i>Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamid Gel Electroforesis</i>)	Prosiding seminar nasional (2010)	Jumlah pita protein sub unit pilli dari 26 strain <i>Salmonella typhi</i> bervariasi yaitu 8-17 pita, BM tertinggi 200 kD dan terendah 10 kD , dengan jumlah karakter 20.
2.	Ikmalia (2008) “Analisa Profil Protein Isolat <i>Escherichia coli</i> S1 Hasil Irradiasi Sinar Gamma”	SDS-PAGE (<i>Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamid Gel Electroforesis</i>)	Skripsi (2008)	Didapat dosis iradiasi untuk menginaktivasi <i>Escherichia coli</i> S1 adalah 800 Gy – 1000 Gy dengan laju dosis 1089,59Gy/jam. Irradiasi sinar gamma terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i> S1 inaktif dengan profil protein total yang tidak mengalami perubahan yang signifikan (sign > 5%), dengan nilai signifikan 0,996.
3.	Edu Sarliantara (2015) “Sistematika 3 Strain <i>Escherichia coli</i> Berdasarkan Profil Protein Flagelin”.	SDS-PAGE(<i>Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamid Gel Electroforesis</i>)	Skripsi (2015)	Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan menggunakan metode SDS-PAGE 12%. Sistematika strain E. coli isolat air, feces dan darah, Hasilnya menunjukkan pita protein minor dengan berat molekul 71 kDa yang dimiliki oleh strain isolat darah dan 32 kDa yang dimiliki oleh isolat air dan 39 kDa dari isolat feces.

Berdasarkan penjelasan tersebut, perbedaan antara penelitian pertama dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu pada objek penelitian dan protein yang dianalisis, penelitian sebelumnya menggunakan bakteri *Salmonella typhi* isolat jawa dan analisis profil protein pilli, sedangkan penelitian ini tentang profil protein bakteri *Escherichia coli* isolat sumur gali Desa Wonosalam Kabupaten

Demak. Perbedaan penelitian kedua dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu pada isolatnya. Penelitian kedua menggunakan isolat *Escherichia coli* S1, sedangkan penelitian ini menggunakan isolat *Escherichia coli* sumur gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak. Perbedaan penelitian ketiga dengan penelitian yang akan dilakukan yaitu pada jenis isolatnya. Penelitian ketiga menggunakan isolat air, darah, dan feses, sedangkan penelitian ini menggunakan isolat air sumur gali.



BAB II

KAJIAN PUSTAKA

2.1. Air

Sebagian besar tubuh manusia tersusun dari jutaan sel dan sel tersebut mengandung air (Shaji et al. 2009). Air merupakan materi yang sangat penting dalam kehidupan makhluk hidup, seperti tanaman, hewan, dan manusia (Radji et al 2008). Jika bagi manusia air dapat dimanfaatkan salah satunya sebagai air minum.

Air yang akan digunakan untuk air minum harus memenuhi syarat mutu kualitas air (Sutrisno, 2004). Menurut peraturan Menteri Kesehatan No.416/MEN.KES/PER/IX/1990 tentang syarat-syarat dan pengawasan kualitas air, yang disebut sebagai air minum adalah air yang melalui proses pengolahan yang memenuhi syarat kesehatan dan dapat langsung diminum. Penentuan kualitas air dapat diketahui dengan menggunakan parameter fisika (temperatur, padatan terlarut, dan padatan tersuspensi), kimia (pH, DO, BOD, nitrat, Fe, dan timbal), dan mikrobiologi (MPN *Coliform* dan *Escherichia coli*) (Marwati et al. 2008).

Kriteria kualitas air secara mikrobiologis ditetapkan melalui Keputusan Menteri Kesehatan No. 907 Tahun 2002 bahwa air minum tidak boleh mengandung bakteri kelompok coliform. Selama ini air di dapat dari berbagai sumber, antara lain air hujan, air pegunungan, air laut, dan air sumur

2.2. Sumur Gali

Sumur gali merupakan satu konstruksi sumur yang umum digunakan untuk mengambil air tanah bagi masyarakat, untuk kebutuhan sehari-hari salah satunya untuk air minum, biasanya dengan kedalaman 7 - 10 meter dari permukaan tanah, sumur gali menyediakan sumber air yang berasal dari lapisan tanah yang berdekatan dengan permukaan tanah yang mudah terkena kontaminasi dari kotoran hewan ataupun manusia melalui rembesan (Suryana 2013).

Menurut Suryana (2013), penggunaan air sumur gali kurang baik bagi kesehatan bila cara pengolahannya tidak benar, untuk mengurangi resiko tercemarnya air oleh mikroorganisme maka harus diperhatikan syarat-syarat konstruksi sumur gali yang sehat, sebagai berikut :

a. Syarat Lokasi atau Jarak

Agar sumur terhindar dari kontaminasi yang harus diperhatikan adalah jarak sumur dengan jamban, lubang galian untuk air limbah (*Cesspool, Seepage pit*), dan sumber kontaminan lainnya. Jarak sumur dengan kakus atau tempat pembuangan limbah rumah tangga atau lainnya harus > 10 meter.

b. Dinding Sumur Gali

Dinding sumur gali harus terbuat dari tembok yang kedap air (disemen) yang berfungsi agar air sumur tidak mengalami kontaminasi dari rembesan limbah.

c. Kebersihan Lingkungan Sekitar Sumur

Kebersihan sekitar sumur merupakan hal yang sangat penting sehingga tidak mengganggu kesehatan dan tidak menimbulkan kontaminasi bakteri *coliform* salah satunya bakteri *E. coli*.

2.3. *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri yang dapat hidup pada lingkungan yang berbeda. Bakteri ini dapat ditemukan di tanah, air, tanaman, hewan, dan manusia (Berg 2003).

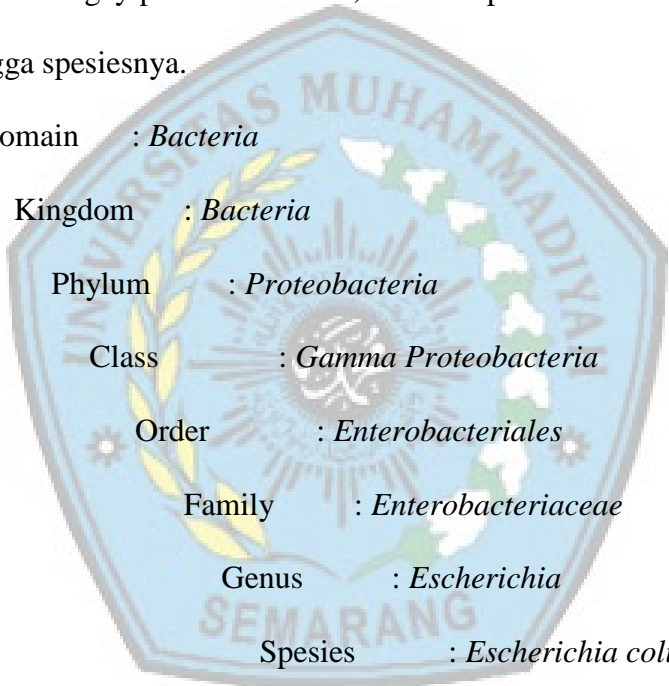
2.3.1. Karakteristik, Morfologi dan Klasifikasi

Struktur sel *E.coli* dikelilingi oleh membran sel, terdiri dari sitoplasma yang mengandung nukleprotein, membran sel ditutupi oleh dinding sel berlapis kapsul, flagella dan pilli *E. coli* menjulur dari permukaan sel (Tizard, 2004). Tiga struktur antigen utama permukaan yang digunakan sebagai pembeda serotipe golongan *E.coli* yaitu dinding sel, kapsul dan flagella. Dinding sel *E.coli* terdiri berupa lipopolisakarida yang bersifat pirogen dan menghasilkan endotoksin serta diklasifikasikan sebagai antigen O, kapsul *E.coli* berupa polisakarida yang dapat melindungi membran luar dari fagositik dan sistem komplemen serta diklasifikasikan sebagai antigen K, flagella *E.coli* terdiri dari protein yang bersifat antigenik serta dikenal sebagai antigen H, faktor virulensi *E.coli* juga disebabkan enterotoksin, hemolisin, kolisin, siderophor, dan molekul pengikat besi (aerobaktin dan entrobaktin) (Quinn et al, 2002).

Menurut Gillespie & Hawkey (2005), genus *Escherichia* termasuk bakteri motil yang masuk ke dalam keluarga *Enterobacteriaceae*, bakteri *E. coli*

merupakan bakteri gram negatif, tidak membentuk spora, oksidase negatif, berbentuk batang, anaerob fakultatif, motil karena memiliki flagel, mampu memfermentasi berbagai karbohidrat dengan produksi asam dan gas, contohnya laktosa dapat di fermentasi dengan cepat. Beberapa *E. coli* (metabolik tidak aktif) tidak dapat memfermentasikan karbohidrat, serta spesies *Escherichia* yang lainnya, termasuk enteroinvasif *E. coli* (EIEC).

Menurut Bergey pada tahun 1923, *E.coli* dapat diklasifikasikan berdasarkan domain hingga spesiesnya.



Domain : *Bacteria*
 Kingdom : *Bacteria*
 Phylum : *Proteobacteria*
 Class : *Gamma Proteobacteria*
 Order : *Enterobacteriales*
 Family : *Enterobacteriaceae*
 Genus : *Escherichia*
 Spesies : *Escherichia coli*

2.3.2. Sifat Biokimia

Bakteri *E. coli* juga bersifat katalase positif, oksidase negatif, dan fermentatif. *E. coli* dapat tumbuh pada pH 4-9 dengan aktivitas air 0.935. Laju pertumbuhan *E. coli* yaitu 25 jam/generasi pada suhu 8 °C (Forsythe, 2000). *E. coli* dapat dibedakan dengan *Enterobacteriaceae* lainnya berdasarkan uji gula-gula dan uji biokimia. Secara sederhana uji-uji untuk grup penting ini disebut

dengan *indol*, *methyl red*, *Voges-Proskauer*, *citrate* atau disingkat IMViC (Adams dan Moss 2008).

Tabel 2. Hasil Uji Biokimia Bakteri *E. coli* (Gillespie & Hawkey 2006)

Uji Biokimia	Hasil
Indol	+
MR	+
VP	-
Citrat	-
Motil	+
Urea	-
H ₂ S (TSIA)	-
Glukosa, Gas	+
Laktosa	+
Sukrosa	+

2.3.3 Patogenitas

Menurut Jawetz et.al (2005), bakteri *E. coli* dapat menyebabkan penyakit, seperti :

a. Infeksi Saluran Kemih

Bakteri *E. coli* umumnya berasal dari kotoran atau flora periuretra, bakteri *E. coli* dapat naik ke saluran kemih dari meatus uretra atau dari penyisipan kateter dan menginfeksi kandung kemih, dalam beberapa kasus bakteri ini masuk melalui ureter dan menyebabkan pielonefritis akut yang dapat mempengaruhi kesehatan ginjal. Gejalanya meliputi demam, nyeri pinggang, kerasnya pangkal paha atau sakit perut, mual dan muntah.

b. Meningitis

Bakteri *E. coli* juga berperan dalam terjadinya meningitis neonatal, salah satu penyebab meningitis pada bayi.

c. Sepsis

Merupakan kondisi medis yang serius yang disebabkan oleh respon imun terhadap infeksi, ketika pertahanan sel inang yang normal tidak memadai, *E. coli* dapat mencapai aliran darah dan menyebabkan sepsis. Bayi yang baru lahir sangat rentan terhadap *E. coli* sepsis karena belum memiliki antibodi IgM (Jawetz et al, 2005).

d. Diare

Bakteri *E. coli* yang menyebabkan diare sangat umum di dunia, berdasarkan perbedaan serotipe dan virulensi, strain *E. coli* patogen yang menyebabkan penyakit pada saluran pencernaan dibedakan menjadi enam golongan, yaitu *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC), *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC), *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC), *Enteroaggregatif Escherichia coli* (EAEC), *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC), dan *Diffuse-adhering Escherichia coli* (Sommer et al. 1994).

Menurut Kaper et al (2004), ada 6 patogenitas yang dimiliki oleh bakteri *E. coli*, sebagai berikut :

a. *Enteropatogenic Escherichia coli* (EPEC)

Mekanisme patogenitas EPEC adalah bakteri ini dapat menghasilkan lesi dengan menghancurkan mikrofilia dan melekat pada sel mukosa usus, membentuk filamentous actin dan beberapa elemen sitoskeleton. Bakteri ini dapat menyebabkan diare yang serius pada bayi, terutama di Negara berkembang, penyebaran infeksi ini melalui makanan atau sumber air yang terkontaminasi oleh feses.(Kaper et al. 2004)

b. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Bakteri ini menyebabkan diare berair dari yang ringan hingga parah, bakteri ini merupakan penyebab utama bagi wisatawan yang berkunjung ke negara berkembang yang tidak memiliki standart higienitasi yang baik, ETEC dapat berkoloni pada permukaan mukosa usus kecil dan menguraikan enteroksin yang menimbulkan sekresi usus (Kaper et al. 2004).

c. *Enteroinvasif Escherichia coli* (EIEC)

Merupakan kelainan inflamasi pada mukosa dan sub mukosa usus yang disebabkan oleh inflasi dan multiplikasi EIEC dalam sel epitel pada usus, menyebabkan berbagai tingkat disentri, yang ditandai dengan demam, kram perut, dan diare yang mengandung darah dan lender (Kaper et al. 2004).

d. *Enteraggregative Escherichia coli* (EAEC)

Mekanisme patogenitas EAEC adalah berkoloni di mukosa usus, sebagian besar di usus besar, dan diikat oleh sekresi enterotoksin dan sitotoksin. Efek yang paling parah dibagian kolon, mengalami kerusakan pada mukosa (Kaper et al. 2004).

e. *Enterohaemoragic Escherichia coli* (EHEC)

Serotipe *E.coli* yang memproduksi verotoksin yaitu EHEC O157:H7.EHEC memproduksi toksin yang sifatnya hampir sama dengan toksin shiga yang diproduksi oleh strain *Shigella dysenteriae*, verotoksin yang dihasilkan menghancurkan dinding mukosa menyebabkan pendarahan (Kaper et al. 2004).

f. *Diffuse-adhering Escherichia coli* (DAEC)

Sebagai penyebab diare pada anak-anak yang berusia > 12 bulan, DAEC menginduksi efek sitopatik yang ditandai dengan perkembangan ekstensi seluler (Kaper et al. 2004).

2.4. Protein

Protein pertama kali diperkenalkan oleh pakar kimia Belanda yang bernama Mulder, yang mengisolasi susunan tubuh yang mengandung nitrogen dan protein (Sari, 2011). Protein berasal dari kata *proteos* (utama atau pertama) yang merupakan senyawa makromolekul yang memiliki peranan penting pada setiap makhluk hidup, protein pada sel *E. coli* dibagi menjadi 2 yaitu protein intraselluler dan protein ekstraselluler. Protein intraselluler adalah protein yang terdapat dalam membran sel, ribosom, dan nukleolid. Protein ekstraselluler adalah protein yang terdapat di dinding sel, membran luar dan flagel . Struktur protein terdiri dari struktur primer, sekunder, tersier, dan kuartener (Ikmalia, 2008). Protein terdiri dari asam amino, yang tersusun atas 20 asam amino yang sama.

Struktur primer menunjukkan jumlah, jenis dan urutan asam amino dalam molekul protein. Maka dari itu ikatan asam amino ialah ikatan peptida, yang urutan ikatan peptidanya dapat diketahui. Struktur sekunder merupakan struktur protein yang dihasilkan oleh adanya interaksi hidrogen, struktur sekunder terdiri dari α -heliks (spiral), dan β -sheet (lembaran berlipat). Struktur tersier menunjukkan kecenderungan polipeptida membentuk lipatan atau gulungan, dan membentuk struktur yang lebih kompleks. Struktur kuartener menunjukkan adanya interaksi intermolekuler antar unit-unit protein (Ikmalia, 2008).

Kebanyakan molekul protein berada dalam sel, dan kemungkinan berada di dalam organel pada sel, pada penelitian ini cara yang digunakan untuk membuka sel dan organel dengan metode sonikasi frekuensi tinggi.

Sonikasi frekuensi tinggi adalah metode yang banyak digunakan untuk menghancurkan sel dan organel. Gelombang suara dengan frekuensi tinggi adalah metode yang efektif untuk merusak sel yang bisa digunakan pada mikroorganisme. Efisiensi perusakan sel dipengaruhi oleh kekuatan yang dipakai pada instrument, durasi pemaparan dan volume material proses. Pendinginan untuk mencegah peningkatan panas (Koolman & Roehm 2005).

Protein larut dalam supernatan yang kemudian diukur dengan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate – PolyacrylamidGel Electroforesis*).

2.5. *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electroforesis (SDS PAGE)*

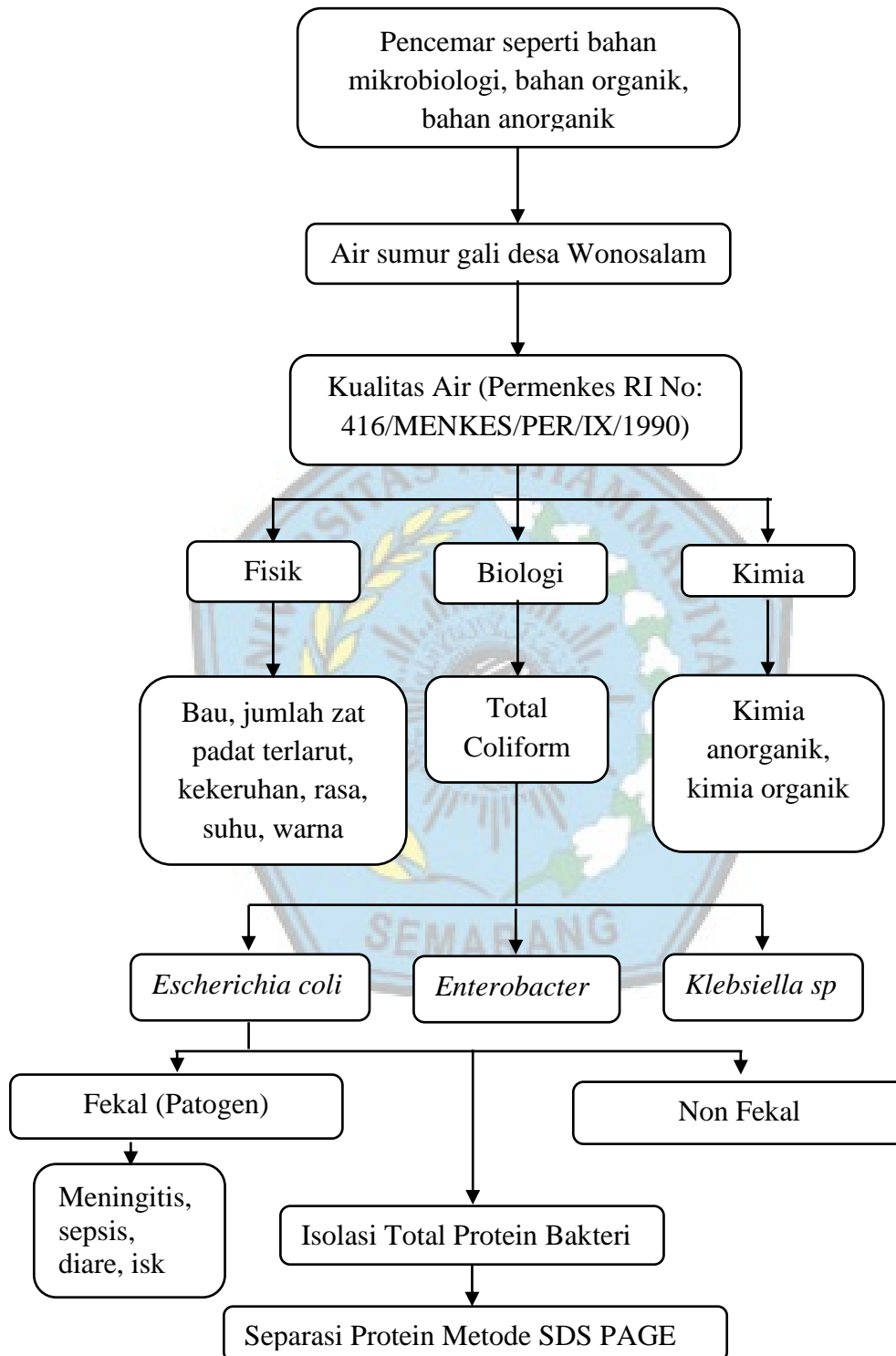
Menurut Fatchiyah et al tahun 2011, elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan molekul yang menggunakan medan listrik (elektro) sebagai penggerak molekul dan matriks penyangga berpori (foresis). Metode ini sangat banyak digunakan untuk memisahkan molekul yang bermuatan atau dibuat bermuatan, dengan menggunakan elektroforesis, protein bisa dipisahkan berdasarkan berat molekulnya (dengan SDS-PAGE) atau berdasarkan isoelektriknya (dengan IEF). Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk, dan ukuran, maka dari itu elektroforesis dapat digunakan untuk pemisahan makromolekul (protein dan asam nukleat). Elektroforesis makromolekul memerlukan matriks penyangga untuk mencegah terjadinya difusi karena timbulnya panas dari arus listrik, maka dari itu dibutuhkan gel poliakrilamida dan

agarosa yang merupakan matriks penyangga yang berfungsi untuk pemisahan asam nukleat dan protein.

Gel poliakrilamida biasanya digunakan dalam proses pemisahan protein dengan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*). SDS-PAGE merupakan prosedur dasar dalam aplikasi analisis protein, pada Western blotting, SDS-PAGE merupakan tahap awal untuk separasi protein sebelum protein ditransfer pada membran PVDF.

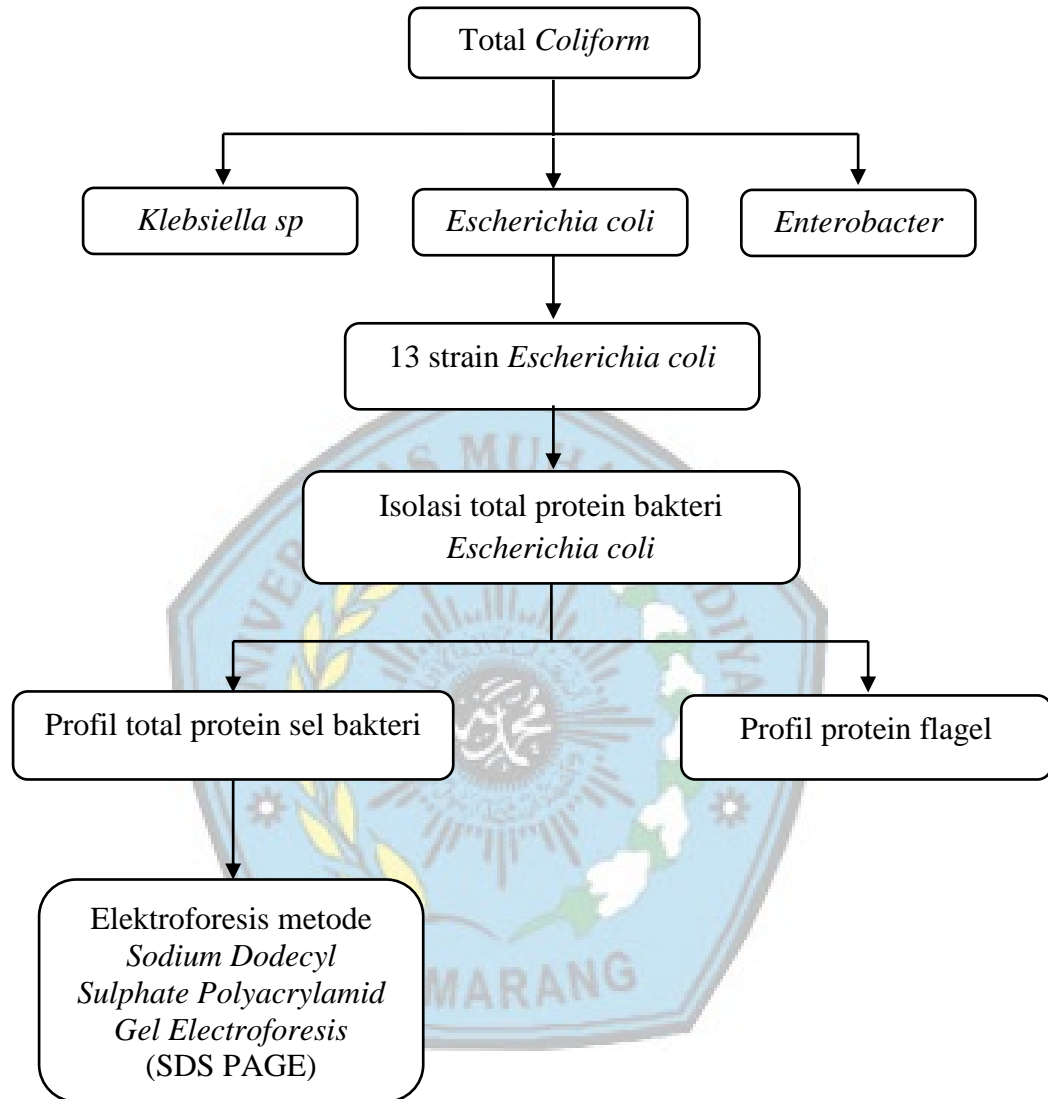


2.6 Alur Teori



Gambar 1. Alur Teori

2.7 Alur Konsep



Gambar 2. Alur Konsep

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian kuantitatif.

3.2. Desain Penelitian

Penelitian deskriptif.

3.3. Variabel Penelitian

Variabel yang diamati adalah profil total protein bakteri *E. coli* isolat air sumur gali di Desa Wonosalam Kabupaten Demak.

3.4. Definisi Operasional

Variabel yang digunakan dalam penelitian ini dapat didefinisikan sebagai berikut :

Variabel	Definisi
<i>Escherichia coli</i>	Merupakan bakteri flora normal pada usus manusia dan hewan, dapat menjadi patogen jika hidup di luar habitat normalnya. Bakteri <i>E. coli</i> berbentuk batang, gram negatif, tidak berspora, memiliki flagel, oksidase negatif, anaerob fakultatif.
Protein Sel Bakteri	Protein pada bakteri yang diperoleh dengan menggunakan metode.
Profil Total Protein	Sub-sub unit protein yang menyusun protein total berdasarkan berat molekul yang diseparaasi dengan menggunakan Elektroforesis SDS-PAGE.

3.5. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian adalah air sumur gali yang terdapat di Desa Wonosalam Kabupaten Demak, total populasi air sumur gali sebanyak 20 sumur yang letaknya dekat dengan *septic tank*. Sampel adalah 13 strain bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali di Desa Wonosalam yang memiliki jarak kurang dari 10 meter dari *septic tank*.

3.6. Obyek Penelitian

Spesimen Penelitian adalah 13 strain bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak.

3.7. Alat dan Bahan

3.7.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Chamber elektroforesis, power supply, vortex, centrifuge, waterbath, rotator, konikal, tabung endorff, sonikator.

3.7.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri *Escherichia coli*, BHI cair, BHI agar miring (OXOID), NaCl fisiologis, Mac Conkey (MERCK), HCl, NaOH, acrylamide dan bis-acrylamide (electrophoresis grade), TEMED, Mercapto Etanol, Bromophenol Blue, Glycine, SDS, APS, Tris, PA, Coomassie Brilliant Blue, Acetic Acid, PBS, d_4H_2O , Gliserol.

3.8. Prosedur Penelitian

3.8.1. Kultivasi Bakteri

Prosedur kultivasi ini diambil dari penelitian (Darmawati et al. 2012) yang telah dimodifikasi. Kultivasi *E. coli* menggunakan media bifasik (BHI agar ditambah BHI cair). Satu koloni bakteri dari media Mac conkey diinokulasikan ke dalam 3 ml media BHI cair, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kultur tersebut digunakan sebagai starter, lalu dimasukkan ke dalam 10 ml media BHI cair kemudian diinkubasi ± 1 - 3 jam pada suhu 37°C. Setelah itu kultur tersebut diinokulasikan ke dalam media BHI agar miring (dalam tabung reaksi), diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, sehingga didapat 13 strain bakteri *E. coli*.

3.8.2. Isolasi Protein *Escherichia coli*

Total protein bakteri diperoleh dengan cara menumbuhkan koloni bakteri pada 100 ml medium BHI cair, kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Kultur bakteri selanjutnya di sentrifugasi pada suhu 4°C, dengan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit. Pelet dicuci dengan cara diresuspensikan menggunakan 0,1 M PBS (*Phosphate Bufer Saline*) pH 7,4. Pencucian dilakukan 3 kali, kemudian pelet diresuspensikan dalam 1,5 ml PBS Ph 7,4. Suspensi bakteri kemudian disonikasi 6 kali 30 detik dengan waktu tenggang 30 detik pada suhu 4°C. Amplitudo *repeating duty cycle* yang digunakan adalah 0,7. Hasil sonikasi suspensi bakteri di sentrifugasi pada suhu 4°C, dengan kecepatan 12000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang diperoleh adalah protein terlarut sel yang siap diukur konsentrasi proteinnya menggunakan reagen biorat protein assay.

Pengukuran konsentrasi protein, dilakukan pembuatan blanko 1000 µl, menggunakan 800 µl aquades ditambah 200 µl reagen biorad protein assay. Kemudian untuk sampel menggunakan supernatan bakteri *E. coli* yang diambil sebanyak 2 µl lalu ditambahkan dengan aquades sebanyak 798 µl dan reagen biorad sebanyak 200 µl, lalu homogenkan dan diinkubasi selama 5 menit, kemudian dibaca menggunakan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm untuk mendapatkan konsentrasi total proteinnya. Setelah itu protein sel bakteri siap di elektroforesis dengan SDS PAGE.

3.8.3. Analisis Protein Metode *Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamid Gel Electroforesis (SDS-PAGE)*

Analisis Protein *Escherichia coli* dengan SDS-PAGE menurut metode Laemmli (1970) disiapkan glassplate, sisir, dan spaser yang telah dibersihkan menggunakan detergen dan alkohol 70% untuk pencetak gel. Setelah alat pencetak gel disiapkan, dimasukkan separating gel yang telah dibuat kedalam alat pencetak gel, tunggu hingga polimerisasi. Selanjutnya dimasukkan stacking gel diatas separating gel dengan cepat kemudian dimasukkan sisir diatasnya, tunggu hingga terjadi polimerisasi. Kemudian sisir diangkat dari atas stacking gel secara perlahan.

Setelah terjadi polimerisasi kemudian dimasukkan kedalam alat elektroforesis. Running buffer dimasukkan kedalamnya, kemudian sampel dimasukkan kedalam sumuran yang telah disediakan masing-masing sebanyak 20 µl, alat kemudian dihubungkan dengan aliran listrik dengan tegangan 100 volt, setelah *bromophenol blue* mencapai dasar stacking gel tegangan ditambah

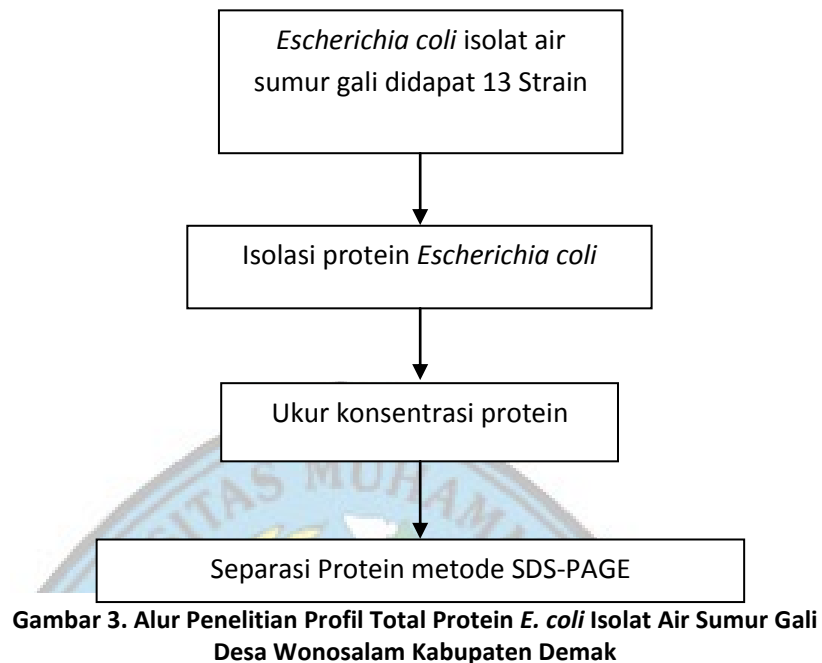
menjadi 200 volt, aliran listrik setelah *bromophenol blue* mencapai dasar separating gel. Gel dikeluarkan dari alat pencetak secara perlahan, kemudian dimasukkan kedalam larutan pewarna dengan 0,1% *Commassie Brilliant Blue R-250* selama 30 – 60 menit hingga pita protein terwarnai. Selanjutnya untuk menghilangkan warna pada gel yang tidak mengandung protein maka diberi larutan destaining, larutan destaining diganti 3 – 4 kali hingga gel tampak bersih..

Menurut Gunanti (2010) penentuan Berat Molekul (BM) protein dilakukan dengan cara menghitung Retardaction Factor (Rf) dari masing-masing pita (band) protein dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$$R_f = \frac{\text{Jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{Jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$



3.9. Alur Penelitian



Gambar 3. Alur Penelitian Profil Total Protein *E. coli* Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak

3.10. Teknik Pengumpulan Data

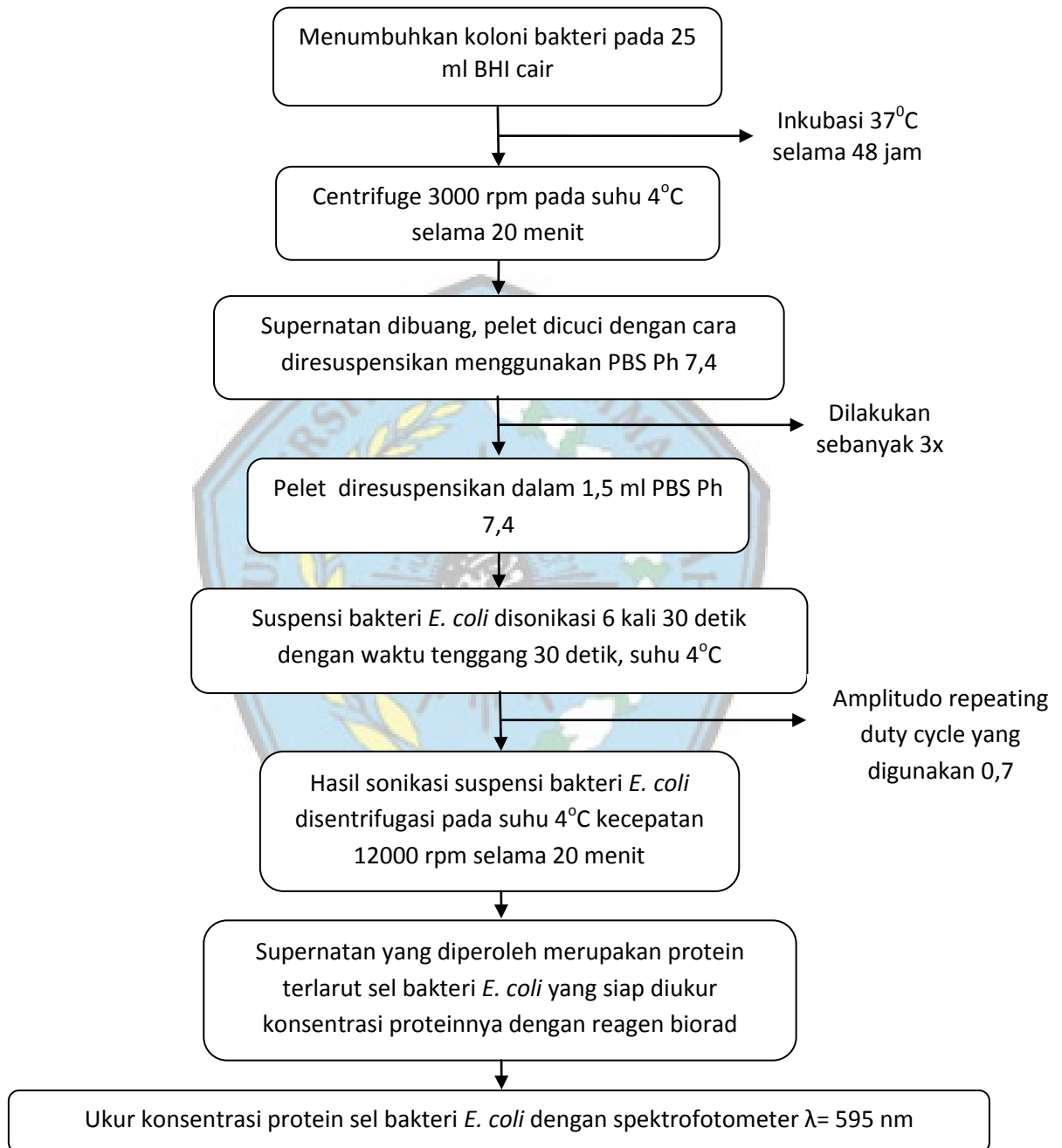
Data yang digunakan dalam penelitian ini merupakan data primer dan hasil penelitian disajikan dalam bentuk narasi.

3.11. Tempat dan Waktu Penelitian

Tempat penelitian di laboratorium Biologi Molekuler Analis Kesehatan Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Semarang Jalan Kedungmundu Raya No.18 Semarang. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Desember 2015 – September 2016.

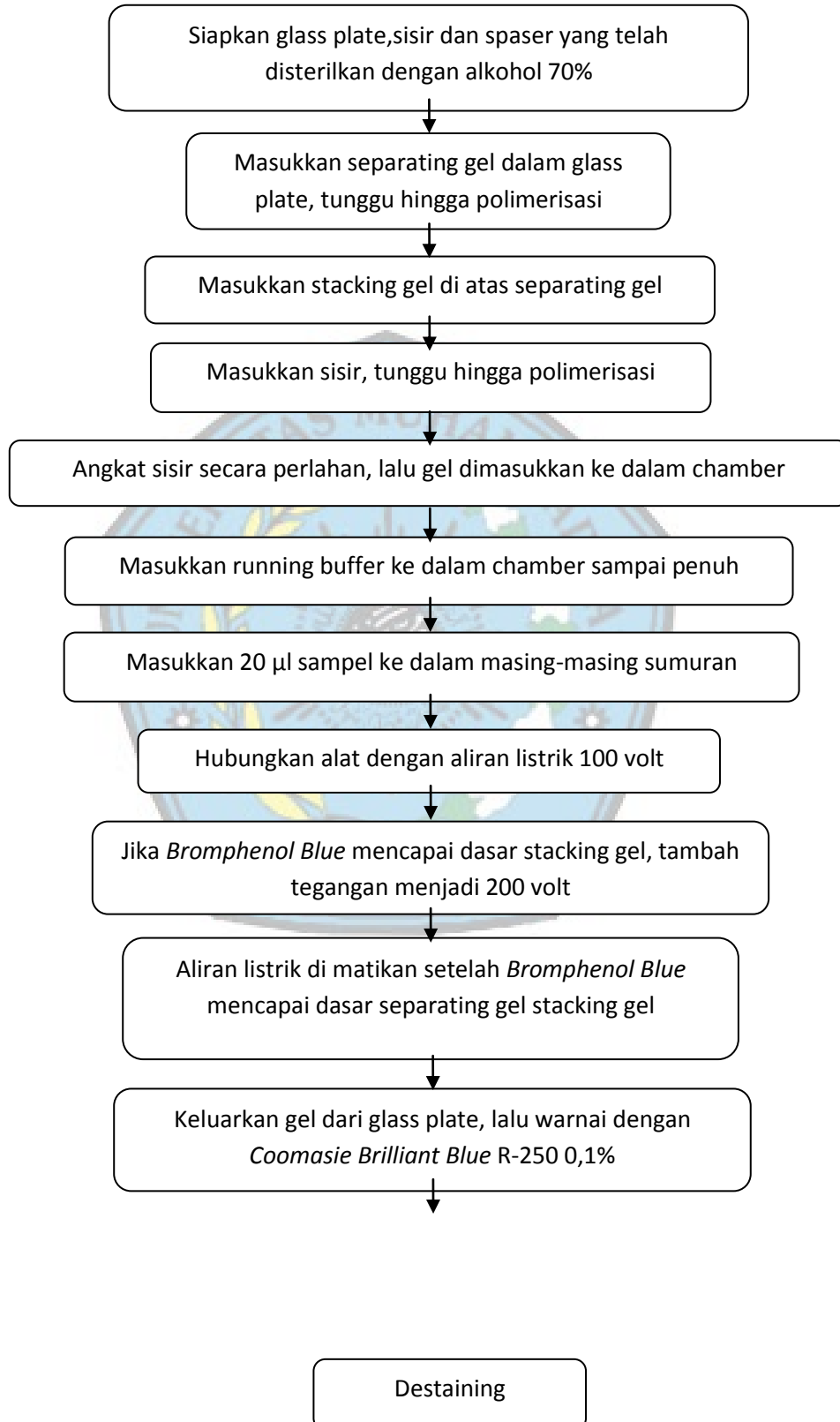
3.12. Ringkasan Prosedur

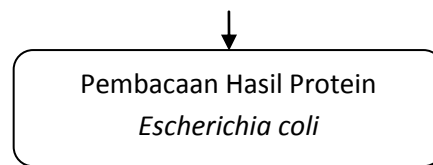
3.12.1. Isolasi Protein *Escherichia coli*



Gambar 4. Ringkasan Prosedur Isolasi Total Protein *Escherichia coli* Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak

3.12.2. Separasi Protein Metode SDS-PAGE





**Gambar 5. Alur Separasi Protein Bakteri *E. coli* Isolat Air Sumur Gali
Desa Wonosalam Kabupaten Demak dengan Metode SDS-PAGE**



BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Protein Bakteri *Escherichia coli*

Protein dari 13 strain bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali di desa Wonosalam Kabupaten Demak, di isolasi dengan menggunakan metode sonikasi. Kemudian diseparasi dengan menggunakan SDS PAGE (12%). Hasil perhitungan Berat Molekul (BM) protein dari 13 strain bakteri *Escherichia coli* dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil penelitian menunjukkan 13 strain *Escherichia coli* yang memiliki Berat Molekul 10 KDa – 225 KDa. Dengan jumlah pita protein yang bervariasi antara 6 – 21 pita, yang menunjukkan adanya kespesifikan dari spesies yang sama namun memiliki pita protein yang berbeda.

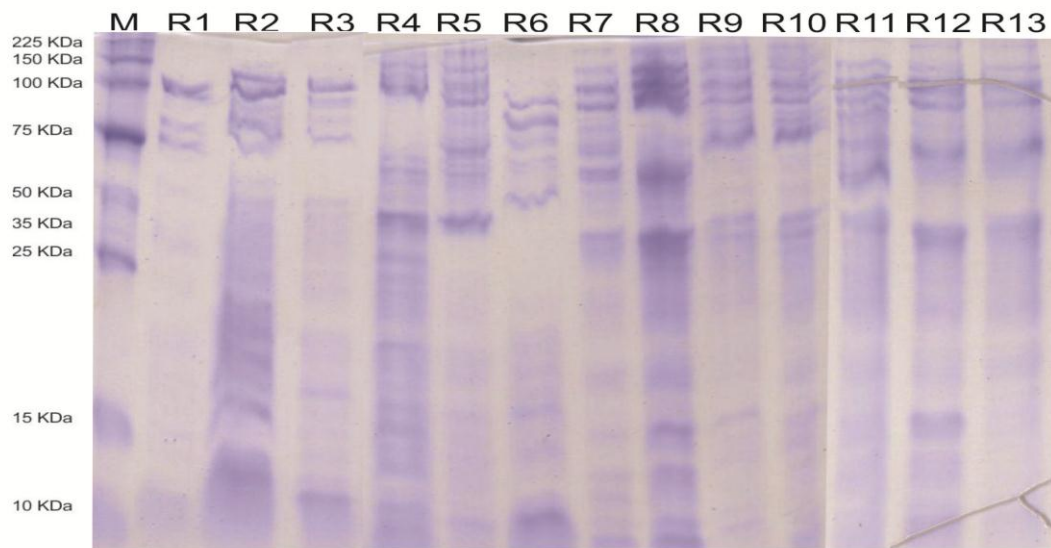
Pada pita protein dengan Berat Molekul 10 KDa, 13 KDa, 15 KDa, tampak dominan, hal ini menunjukkan bahwa setiap strain memiliki Berat Molekul tersebut.

Tabel 3. Berat Molekul 13 Strain *Escherichia coli* Isolat Air Sumur Gali

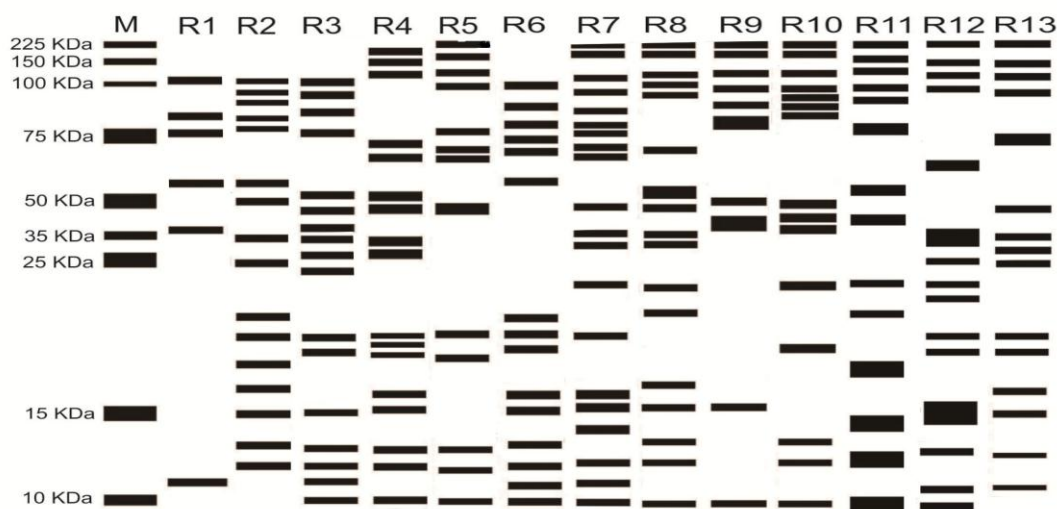
Sub unit protein BM (KDa)	Strain												
	R1 (SG 1A)	R2 (SG 3C)	R3 (SG 4A 2)	R4 (SG 5C)	R5 (SG 7C)	R6 (SG 8A 1)	R7 (SG 9B)	R8 (SG 10B)	R9 (SG 11C)	R10 (SG 12A)	R11 (SG 16A)	R12 (SG 19A)	R13 (SG 20B)
225	-	-	-	-	√	-	√	√	√	√	√	√	√
175	-	-	-	√	√	-	√	√	√	√	-	-	-
150	-	-	-	√	-	-	-	-	-	-	√	-	√
127	-	-	-	√	√	-	√	√	√	√	-	√	-
117	√	√	-	-	-	-	-	√	-	-	√	√	√
100	-	-	√	-	√	√	√	√	√	√	-	√	-
94	-	√	√	-	-	-	-	-	-	√	√	-	√
88	-	√	-	-	-	√	√	-	√	√	-	-	-
86	√	-	√	-	-	-	-	-	-	-	√	-	-
80	-	√	-	-	-	√	√	-	√	√	-	-	-
75	√	-	√	-	√	-	√	-	-	-	-	-	-
71	-	√	-	√	-	√	√	√	√	-	√	-	√
67	-	-	-	√	√	√	√	√	√	-	-	-	-
65	-	-	-	√	√	-	√	√	√	-	-	√	-
57	√	√	-	-	-	√	-	√	-	√	√	-	-
50	-	√	√	√	√	-	-	-	√	√	-	-	-
47	-	-	√	√	√	-	-	-	-	-	-	-	-
43	-	-	-	-	-	-	√	√	√	√	-	-	-
39	√	-	√	-	-	-	-	-	-	-	√	-	√
35	-	-	-	-	-	-	√	√	√	√	-	√	-
32	-	√	√	√	-	-	-	-	-	-	-	-	√
31	-	-	-	-	-	-	√	√	-	-	-	-	-
28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	√	-
27	-	-	√	√	-	-	-	-	-	-	-	-	√
25	-	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	√
24	-	-	√	-	-	-	-	√	-	√	-	√	-
23	-	-	-	-	-	-	√	-	-	-	√	-	-
22	-	√	-	-	-	√	-	√	-	-	√	√	√
20	-	√	√	√	√	√	-	-	-	-	-	√	√
19	-	-	-	√	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	-	-	√	√	-	√	√	-	-	√	-	-	-
17	-	√	-	-	√	-	-	-	-	-	-	√	-
16	-	√	-	√	-	√	√	√	-	-	-	-	√
15	-	√	√	√	-	√	√	√	√	-	√	√	√
14	-	-	-	-	-	-	√	-	-	√	-	-	-
13	-	√	√	√	√	√	-	√	-	√	-	√	√
12	-	√	√	√	√	√	√	√	-	-	√	-	-
11	√	-	√	-	-	√	√	-	-	-	√	√	√
10	-	-	√	√	√	√	√	√	√	√	√	√	-

4.2 Hasil Analisis Profil Protein Bakteri *Escherichia coli*

Profil protein dari 13 strain bakteri *Escherichia coli* isolat air sumur gali setelah diseparsi dengan menggunakan metode SDS PAGE (12%), menunjukkan hasil sebagai berikut :



Gambar 6. Hasil Elektroforesis SDS PAGE, R1(SG 1A), R2(SG 3C), R3(SG 4A2), R4(SG 5C), R5(SG 7C), R6(SG 8A1), R7(SG 9B), R8(SG 10B), R9(SG 11C), R10(SG 12A), R11(SG 16A), R12(SG 19A), R13(SG 20B)



Gambar 7. Visualisasi Representasi Protein 13 Strain Bakteri *Escherichia coli* Isolat Air Sumur Gali Desa Wonosalam Kabupaten Demak.

Hasil visualisasi 13 strain bakteri *Escherichia coli* didapatkan pita (*band*) protein yang bervariasi antara 6 – 21 pita, dengan berat molekul (BM) antara 10 KDa – 225 KDa. Berat Molekul tertinggi 225 KDa dan yang terendah 10 KDa.

Berat Molekul 10 KDa, 13 KDa, 15 KDa merupakan Berat Molekul yang dominan, sehingga menunjukkan bahwa setiap strain *E. coli* memiliki Berat Molekul tersebut.

4.3 Pembahasan

Protein pada sel *E. coli* dibagi menjadi 2 yaitu protein intraselluler dan protein ekstraselluler. Protein intraselluler adalah protein yang terdapat dalam membran sel, ribosom, dan nukleolid. Protein ekstraselluler adalah protein yang terdapat di dinding sel, membran luar dan flagel . Struktur protein terdiri dari struktur primer, sekunder, tersier, dan kuartener (Ikmalia 2008).

Struktur primer menunjukkan jumlah, jenis dan urutan asam amino dalam molekul protein. Struktur sekunder merupakan struktur protein yang dihasilkan oleh adanya interaksi hidrogen. Struktur tersier menunjukkan kecenderungan polipeptida membentuk lipatan atau gulungan, dan membentuk struktur yang lebih kompleks. Struktur kuartener menunjukkan adanya interaksi intermolekuler antar unit-unit protein (Ikmalia 2008).

Enzim adalah protein, oleh karena itu pengendalian metabolik dapat dilihat dari profil protein (Yazid et al. 2012). Pada penelitian ini digunakan metode sonikasi frekuensi tinggi guna mendapatkan protein yang berada di dalam sel.

Sonikasi frekuensi tinggi adalah metode yang banyak digunakan untuk menghancurkan sel dan organel. Gelombang suara dengan frekuensi tinggi adalah metode yang efektif untuk merusak sel yang bisa digunakan pada mikroorganisme. Efisiensi perusakan sel dipengaruhi oleh kekuatan yang dipakai pada instrument, durasi pemaparan dan volume material proses. Pendinginan untuk mencegah peningkatan panas (Koolman & Roehm 2005), jika terlalu panas maka protein yang didapat akan mengalami kerusakan.

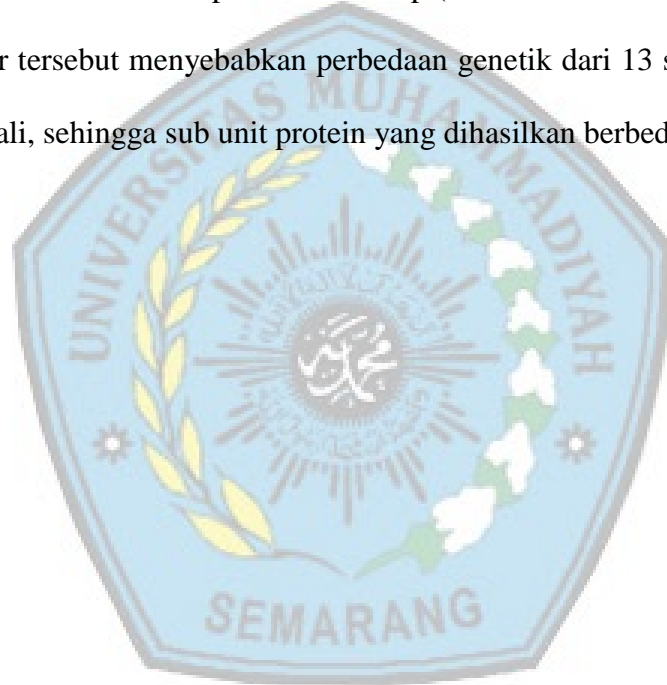
Protein-protein tersebut dapat terpisah karena adanya proses pemanasan. Molekul-molekul dari protein akan bermigrasi dari kutub negatif menuju kutub positif dengan adanya aliran listrik. Pemisahan molekul protein berdasarkan tingkat migrasi dan berat molekul dalam sebuah medan listrik (Wibowo 2010).

Hasil penelitian menunjukkan profil protein ke 13 strain bakteri *E. coli* isolat air sumur gali menunjukkan jumlah pita protein yang bervariasi 6 -21 pita,

dengan Berat Molekul yaitu 10 KDa – 225 KDa, dengan Berat Molekul tertinggi 225 KDa dan Berat Molekul yang terendah 10 KDa.

Hal ini menunjukkan adanya kespesifikan strain yang disebabkan oleh beberapa faktor antara lain Faktor fisik meliputi suhu, pH, oksigen, dan lingkungan, sedangkan nutrisi terdiri dari beberapa tipe yaitu autotrof, heterotrof, fotoautotrof, kemoautotrof, yang dapat memicu munculnya protein-protein sub unit yang spesifik untuk tetap bertahan hidup (Darmawati et al. 2012).

Faktor tersebut menyebabkan perbedaan genetik dari 13 strain *E. coli* isolat air sumur gali, sehingga sub unit protein yang dihasilkan berbeda.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan menggunakan metode SDS PAGE, didapatkan hasil berat molekul (BM) dari 13 strain bakteri *Escherichia coli* yaitu antara 10 KDa sampai 225 KDa. Dengan pita protein yang bervariasi antara 6 – 21 pita.

5.2 Saran

Diharapkan ada penelitian lebih lanjut tentang hubungan antara profil protein dari berbagai macam isolat dengan macam-macam antibiotika terhadap bakteri *Escherichia coli*, guna melihat similaritas dan virulensinya dalam menimbulkan penyakit.

DAFTAR PUSTAKA

- Asfawi, S., 2004. Analisis Faktor Yang Berhubungan Dengan Kualitas Bakteriologis Air Minum Isi Ulang Pada Tingkat Produsen Di Kota Semarang.
- Atlas, R., 1946. *Handbook of Microbiological Media Fourth Edition*, Available at: <http://www.crcnetbase.com/doi/book/10.1201/EBK1439804063>.
- Berg, H.C. & Berry, R.M., 2003. *E. Coli in motion*.
- Bergey's, 1923. *Systematic Bacteriology*,
- Brooks, G., Butel, J. & Morse, S., 2007. *Medical Microbiology*.
- Cutler, P., Doonan, S. & Problem, D., 2005. Protein Purification Protocols. *Methods in Molecular Biology*, 244.
- Darmawati, S. et al., 2013. Chemosystematic of Enterobacteriaceae Familia Obtained from Blood Cultures Based on Total Protein Profiles. , 18(I), pp.58–63.
- Darmawati, S., S, A. & T. W, A., 2012. Analisis Molekuler Profil Protein Pilli untuk Mengungkap Hubungan Similaritas 26 Strain Salmonella typhi Isolat Jawa. , (18).
- Focazio, M.J. et al., 2006. The Chemical Quality of Self-Supplied Domestic Well Water in the United States. *Ground Water Monitoring & Remediation*, 26(3), pp.92–104. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1745-6592.2006.00089.x>.
- Gillespie, S.H. & Hawkey, P.M., 2006. *Principles and Practice of Clinical Bacteriology Principles and Practice of Clinical Bacteriology Editors*,
- I.A.M, T., Suyasa, I.W.. & Sundra, I.K., 2007. Analisis Kualitas Air Sumur Gali Di Kawasan Pariwisata Sanur. , 2(3), pp.1–9.
- Ikmalia, 2008. *Analisa profil protein isolat Escherichia coli S1 Hasil Iradiasi Sinar Gamma*,
- Kaper, J.B., Nataro, J.P. & Mobley, H.L.T., 2004. Pathogenic Escherichia coli. , 2(February).
- Kemenkes, 1990. Peraturan Menteri Kesehatan No . 416 Tahun 1990 Tentang : Syarat-syarat Dan Pengawasan Kualitas Air. , (416).
- Kemenkes, 2010. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 492/Menkes/Per/IV/2010. , pp.1–9.

- Koolman, J. & Roehm, K., 2005. *Color Atlas of Biochemistry 2nd edition , revised and enlarged*,
- Kosasih, B.R. & Astuty, N.I., 2009. Kualitas Air Tanah Di Kecamatan Tebet Jakarta Selatan Ditinjau dari Pola Sebaran Escherichia coli. , 5(1), pp.12–18.
- Marwati, N.M., Mardani, N.. & Sundra, I.K., 2008. Kualitas Air Sumur Gali Di Tinjau Dari Kondisi Lingkungan Fisik Dan Perilaku Masyarakat Di Wilayah Puskesmas I Denpasar Selatan. , 5(1), pp.63–69.
- Noviana, H., 2004. Pola kepekaan antibiotika Escherichia coli yang diisolasi dari berbagai spesimen klinis. , 23(4), pp.122–126.
- Radji, M., Oktavia, H. & Suryadi, H., 2008. Pemeriksaan Bakteriologis Air Minum Isi Ulang Di Beberapa Depo Air Minum Isi Ulang Srengseng Sawah Jakarta Selatan. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 5(2), pp.101–109.
- Rudiyanti, S., 2009. Kualitas Perairan Sungai Banger Pekalongan Berdasarkan Indikator Biologis. *Jurnal Saintek Perikanan*, 4(2), pp.46–52.
- Shaji, C., Nimi, H. & Bindu, L., 2014. Water Quality Assessment Of Open Wells In And Around Chavara Industrial Area, Quilon, Kerala. , 35(March), pp.427–430.
- Utami, N.S., 2012. Kaitan Pencemaran Bakteri Coliform dan Bakteri E. coli Pada Air Sumur Penduduk Dengan Kepadatan Pemukiman Di Kecamatan Jebres Kota Surakarta. , 11.
- Wandansari, A.P., 2013. Kualitas Sumber Air Minum dan Pemanfaatan Jamban Keluarga dengan Kejadian Diare. *Kesehatan Masyarakat*, 9(16), pp.24–29.
- Wandrivel, R., Suharti, N. & Lestari, Y., 2012. Kualitas Air Minum Yang Diproduksi Depot Air Minum Isi Ulang Di Kecamatan Bungus Padang Berdasarkan Persyaratan Mikrobiologi. *Jurnal Fakultas Kedokteran Unand*, 6(3), pp.129–133.
- Widiyanti, N. & Ristiati, N., 2004. Analisis Kualitatif Bakteri Koliform Pada Depo Air Minum Isi Ulang Di Kota Singaraja Bali. *Jurnal Ekologi Kesehatan*, 3(1), pp.64–73. Available at: <http://bpk.litbang.depkes.go.id/index.php/jek/article/view/1332>.
- Willey, J.M., Sherwood, L.M. & Woolverton, C.J., 2009. *Prescott's Principles of Microbiology*,
- Wulandari, C. & Nasir, N., 2014. Kondisi Bakteriologis Air Sumur di Sekitar Tempat Pembuangan Akhir Air Dingin Kota Padang Bacteriological Condition of Ground Well Water at the Landfill of Area Air Dingin in Padang. , 3(4), pp.289–295.

Yazid, M. et al., 2012. Analisis profil protein sitoplasma isolat bakteri dari limbah uranium cair fasa organik. , pp.215–221.

Yuniarno, S., 2005. Hubungan Kualitas Air Sumur Dengan Kejadian Diare Di Das Solo Program Pasca Sarjan.



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1.

PEMBUATAN REAGEN

1. Pembuatan larutan 30% *Polyacrylamide*

Bahan :

- a. *Acrylamide* 29 gram
- b. *Bis Acrylamide* 1 gram
- c. dH₂O 100 ml

Cara membuat :

Mencampurkan kedua bahan tersebut ke dalam 100 ml Aquadest (dH₂O) steril sampai homogen dan disimpan pada suhu 4°C.

2. Pembuatan larutan *Buffer Electroda*

Bahan :

- a. *Glycine* 14,4 gram
- b. *Tris* 3 gram
- c. *SDS* 1 gram
- d. dH₂O 1000 ml

Cara membuat :

Mencampurkan semua bahan tersebut ke dalam 1000 ml Aquadest (dH₂O) steril.

3. Pembuatan *SDS* 10%

Bahan :

- a. *SDS* 10 gram
- b. dH₂O 100 ml

Cara membuat :

Melarutkan *SDS* yang telah ditimbang ke dalam 100 ml Aquadest (dH₂O) steril.

4. Pembuatan *APS* 10%

Bahan :

- a. *APS* 0,1 gram
- b. dH₂O 1 ml

Cara membuat :

Melarutkan *APS* yang telah ditimbang ke dalam 1 ml Aquadest (dH₂O) steril.

5. Pembuatan larutan *Separating gel* 12% sebanyak 12 ml

Bahan :

- a. *Polyacrylamide* 30% 4800 µl
- b. 1,5M *Tris* Ph 8,8 3000 µl
- c. 10% *SDS* 120 µl
- d. dH₂O 3980 µl
- e. *TEMED* 10 µl dan *APS* 10% 90 µl

Cara membuat :

Homogenkan larutan tersebut dan segera diisikan pada plat kaca.

6. Pembuatan larutan *Stacking gel* 5% sebanyak 20 ml

Bahan :

- a. *Polyacrylamide* 30% 1666 μ l
- b. 1,5M *Tris* Ph 6,8 1125 μ l
- c. 10% *SDS* 150 μ l
- d. dH₂O 6823 μ l
- e. *TEMED* 10 μ l dan *APS* 10% 90 μ l

Cara membuat :

Homogenkan larutan tersebut dan segera diisikan pada plat kaca.

7. Pembuatan larutan *Destaining*

Bahan :

- a. *Methanol* 500 ml
- b. *Acetic Acid Glasial* 100 ml
- c. dH₂O 400 ml

Cara membuat :

Homogenkan larutan tersebut dan simpan dalam botol tertutup.

8. Pembuatan larutan *Staining* 0,2 %

Bahan :

- a. *Commasie Brilian Blue* 0,1 gram
- b. Larutan *Destaining* 50 ml

Cara Membuat :

Homogenkan larutan tersebut dan simpan dalam botol tertutup.

9. Pembuatan larutan Asam asetat 10 %

Bahan :

- a. Asam asetat glasial 30 ml
- b. dH₂O 300 ml

Cara Membuat :

Homogenkan larutan tersebut dan simpan dalam botol tertutup.



LAMPIRAN 2.

ABSORBANSI DAN PERHITUNGAN KONSENTRASI PROTEIN

A. Absorbansi Konsentrasi Protein

Tabel Absorbansi Konsentrasi Protein

Sampel (μl)	Aquadest Steril	Biorad	Absorbansi
1	799	200	0,049
2	798	200	0,131
4	796	200	0,219
8	792	200	0,363
16	784	200	0,604
32	768	200	0,994

Rumus penentuan konsentrasi protein : $x = \frac{y-b}{a}$

B. Perhitungan Konsentrasi Protein

SG1A

$$x = \frac{0,273 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,6209 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,310 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG4A.2

$$x = \frac{0,076 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,1972 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,098 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG3C

$$x = \frac{0,202 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,4682 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,234 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG5C

$$x = \frac{0,295 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,6682 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,334 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG7C

$$x = \frac{0,164 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,3864 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,193 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

$$x = \frac{0,162 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,3821 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,191 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG12A

$$x = \frac{0,120 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,2918 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,146 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG8A1

$$x = \frac{0,064 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,1714 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,086 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG16A

$$x = \frac{0,165 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,3886 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,194 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG9B

$$x = \frac{0,072 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,1886 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,094 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG19A

$$x = \frac{0,191 + 0,0157}{0,465}$$

SG10B

$$x = \frac{0,157 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,3714 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,186 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

$$x = 0,4445 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,222 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG20B

$$x = \frac{0,266 + 0,0157}{0,465}$$

$$x = 0,6058 \mu\text{g}/2\mu\text{l}$$

$$x = 0,303 \mu\text{g}/\mu\text{l}$$

SG11C

LAMPIRAN 3.

PERHITUNGAN Rf MARKER DAN Rf SAMPEL

Rf dihitung dengan rumus :
$$Rf = \frac{\text{jarak pergerakan protein dari tempat awal}}{\text{jarak pergerakan warna dari tempat awal}}$$

A. Rf Marker

BM 225 KDa

$$Rf = \frac{0,2}{5,6}$$

$$Rf = 0,04$$

BM 150 KDa

$$Rf = \frac{0,5}{5,6}$$

$$Rf = 0,09$$

BM 100 KDa

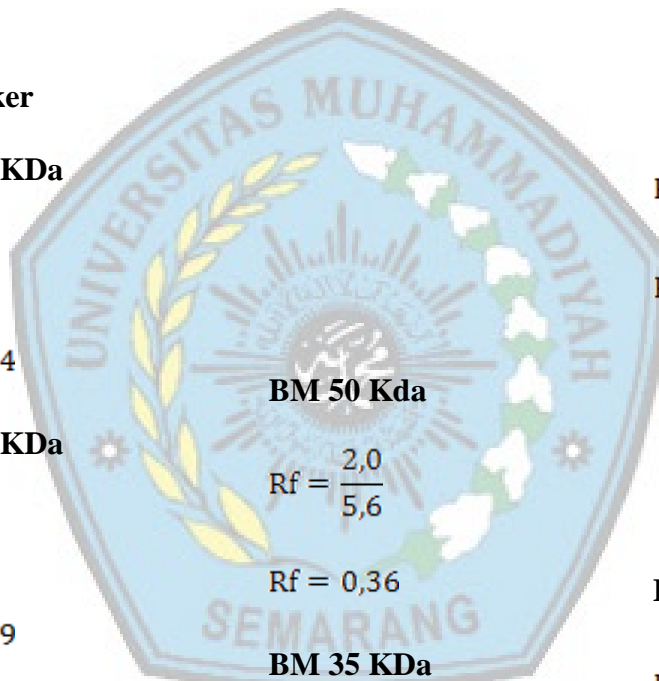
$$Rf = \frac{0,8}{5,6}$$

$$Rf = 0,14$$

BM 75 Kda

$$Rf = \frac{1,3}{5,6}$$

$$Rf = 0,23$$



BM 50 Kda

$$Rf = \frac{2,0}{5,6}$$

$$Rf = 0,36$$

BM 35 KDa

$$Rf = \frac{2,4}{5,6}$$

$$Rf = 0,43$$

BM 25 KDa

$$Rf = \frac{2,8}{5,6}$$

$$Rf = 0,50$$

BM 15 KDa

$$Rf = \frac{4,0}{5,6}$$

$$Rf = 0,71$$

BM 10 KDa

$$Rf = \frac{5,3}{5,6}$$

$$Rf = 0,95$$

$$= 0,41$$

$$R_f = \frac{1,2}{5,6}$$

$$R_f = \frac{5,0}{5,6}$$

$$= 0,21$$

$$= 0,89$$

$$R_f = \frac{1,4}{5,6}$$

$$= 0,25$$

$$R_f = \frac{1,8}{5,6}$$

$$= 0,32$$

B. Rf Sampel

SG 1A

$$R_f = \frac{0,7}{5,6}$$

$$= 0,12$$

$$R_f = \frac{1,1}{5,6}$$

$$= 0,19$$

$$R_f = \frac{1,3}{5,6}$$

$$= 0,23$$

$$R_f = \frac{1,8}{5,6}$$

$$= 0,32$$

$$R_f = \frac{2,3}{5,6}$$

SG 3C

$$R_f = \frac{0,7}{5,6}$$

$$= 0,12$$

$$R_f = \frac{0,7}{5,6}$$

$$= 0,12$$

$$R_f = \frac{0,9}{5,6}$$

$$= 0,16$$

$$R_f = \frac{1,0}{5,6}$$

$$= 0,18$$

$$R_f = \frac{2,0}{5,6}$$

$$= 0,36$$

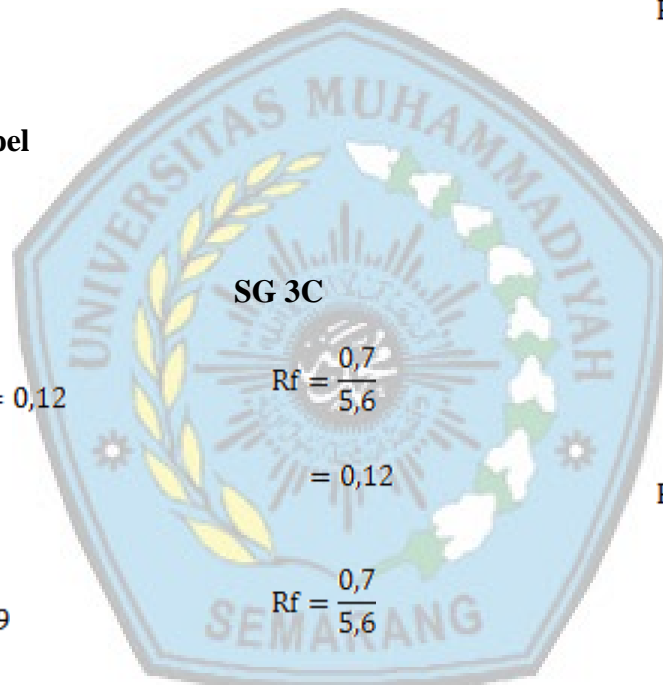
$$R_f = \frac{2,5}{5,6}$$

$$= 0,45$$

$$R_f = \frac{2,8}{5,6}$$

$$= 0,50$$

$$R_f = \frac{3,1}{5,6}$$



$= 0,55$	$= 0,89$	$R_f = \frac{1,3}{5,6}$
$R_f = \frac{3,4}{5,6}$		$= 0,23$
$= 0,60$		$R_f = \frac{2,0}{5,6}$
$R_f = \frac{3,7}{5,6}$		$= 0,36$
$= 0,66$		$R_f = \frac{2,1}{5,6}$
$R_f = \frac{3,9}{5,6}$		$= 0,37$
$= 0,69$		$R_f = \frac{2,3}{5,6}$
		$= 0,41$
$R_f = \frac{4,0}{5,6}$	SG 4A.2	
$= 0,71$	$R_f = \frac{0,8}{5,6}$	$R_f = \frac{2,5}{5,6}$
	$= 0,14$	$= 0,45$
$R_f = \frac{4,3}{5,6}$		
$= 0,77$	$R_f = \frac{0,9}{5,6}$	$R_f = \frac{2,7}{5,6}$
	$= 0,16$	$= 0,48$
$R_f = \frac{4,7}{5,6}$		
$= 0,84$	$R_f = \frac{1,1}{5,6}$	$R_f = \frac{2,9}{5,6}$
	$= 0,19$	$= 0,52$
$R_f = \frac{5,0}{5,6}$		

$$R_f = \frac{3,4}{5,6}$$

$$= 0,60$$

$$R_f = \frac{4,9}{5,6}$$

$$= 0,87$$

$$R_f = \frac{0,6}{5,6}$$

$$= 0,11$$

$$R_f = \frac{3,6}{5,6}$$

$$= 0,64$$

$$R_f = \frac{5,1}{5,6}$$

$$= 0,91$$

$$R_f = \frac{1,4}{5,6}$$

$$= 0,25$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6}$$

$$= 0,70$$

$$R_f = \frac{1,6}{5,6}$$

$$= 0,28$$

$$R_f = \frac{4,3}{5,6}$$

$$= 0,77$$

$$R_f = \frac{1,8}{5,6}$$

$$= 0,32$$

$$R_f = \frac{2,0}{5,6}$$

$$= 0,36$$



SG 5C

$$R_f = \frac{4,5}{5,6}$$

$$= 0,80$$

$$R_f = \frac{0,4}{5,6}$$

$$= 0,07$$

$$R_f = \frac{2,1}{5,6}$$

$$= 0,37$$

$$R_f = \frac{4,7}{5,6}$$

$$= 0,84$$

$$R_f = \frac{0,5}{5,6}$$

$$= 0,09$$

$R_f = \frac{2,5}{5,6}$	$R_f = \frac{4,0}{5,6}$	SG 7C
$= 0,45$	$= 0,71$	$R_f = \frac{0,2}{5,6}$
$R_f = \frac{2,7}{5,6}$	$R_f = \frac{4,3}{5,6}$	$= 0,04$
$= 0,48$	$= 0,77$	$R_f = \frac{0,4}{5,6}$
$R_f = \frac{3,4}{5,6}$	$R_f = \frac{4,5}{5,6}$	$= 0,07$
$= 0,60$	$= 0,80$	$R_f = \frac{0,6}{5,6}$
$R_f = \frac{3,5}{5,6}$	$R_f = \frac{4,8}{5,6}$	$= 0,11$
$= 0,62$	$= 0,86$	$R_f = \frac{0,8}{5,6}$
$R_f = \frac{3,6}{5,6}$	$R_f = \frac{5,1}{5,6}$	$= 0,14$
$= 0,64$	$= 0,91$	$R_f = \frac{1,3}{5,6}$
$R_f = \frac{3,8}{5,6}$	$R_f = \frac{5,3}{5,6}$	$= 0,23$
$= 0,68$	$= 0,95$	$R_f = \frac{1,5}{5,6}$
		$= 0,27$
		$R_f = \frac{1,6}{5,6}$
		$= 0,28$

$$R_f = \frac{2,1}{5,6} = 0,37$$

$$R_f = \frac{3,2}{5,6} = 0,57$$

SG 8A.1

$$R_f = \frac{3,4}{5,6} = 0,60$$

$$R_f = \frac{0,8}{5,6} = 0,14$$

$$R_f = \frac{3,3}{5,6} = 0,59$$

$$R_f = \frac{3,7}{5,6} = 0,66$$

$$R_f = \frac{1,0}{5,6} = 0,18$$

$$R_f = \frac{3,6}{5,6} = 0,64$$

$$R_f = \frac{4,6}{5,6} = 0,82$$

$$R_f = \frac{1,2}{5,6} = 0,21$$

$$R_f = \frac{3,8}{5,6} = 0,68$$

$$R_f = \frac{4,8}{5,6} = 0,86$$

$$R_f = \frac{1,4}{5,6} = 0,25$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6} = 0,71$$

$$R_f = \frac{5,1}{5,6} = 0,91$$

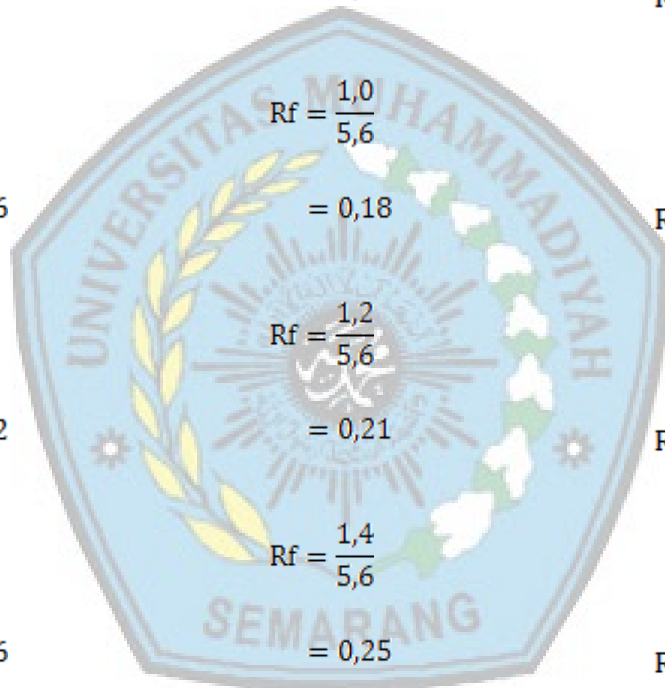
$$R_f = \frac{1,5}{5,6} = 0,27$$

$$R_f = \frac{4,5}{5,6} = 0,80$$

$$R_f = \frac{5,3}{5,6} = 0,95$$

$$R_f = \frac{1,8}{5,6} = 0,32$$

$$R_f = \frac{4,7}{5,6} = 0,84$$



$$R_f = \frac{4,9}{5,6}$$

$$= 0,87$$

$$R_f = \frac{1,2}{5,6}$$

$$= 0,21$$

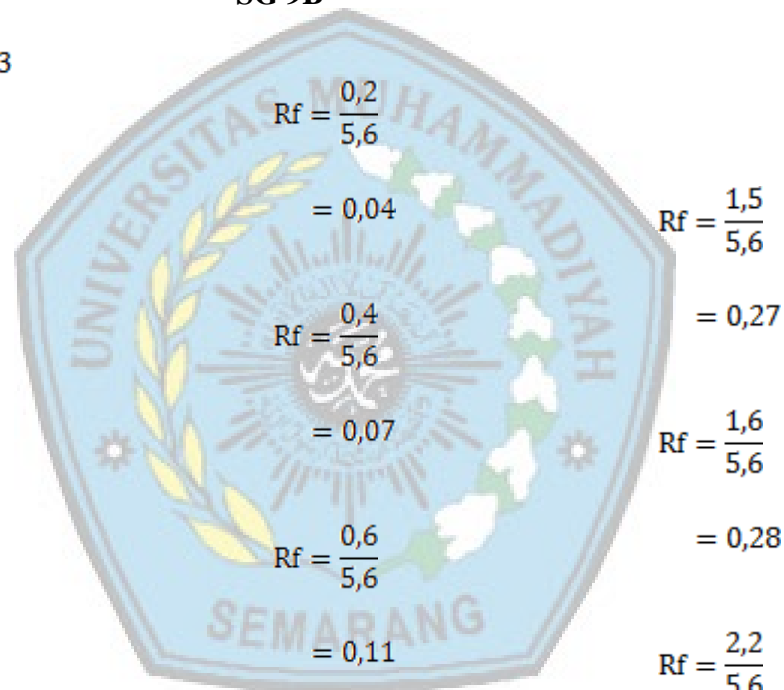
$$R_f = \frac{1,3}{5,6}$$

$$= 0,23$$

$$R_f = \frac{5,2}{5,6}$$

$$= 0,93$$

SG 9B



$$R_f = \frac{0,8}{5,6}$$

$$= 0,14$$

$$R_f = \frac{2,4}{5,6}$$

$$= 0,43$$

$$R_f = \frac{1,0}{5,6}$$

$$= 0,18$$

$$R_f = \frac{2,6}{5,6}$$

$$= 0,46$$

$$R_f = \frac{3,0}{5,6}$$

$$= 0,53$$

$$R_f = \frac{5,2}{5,6}$$

$$= 0,93$$

$$R_f = \frac{0,8}{5,6}$$

$$= 0,14$$

$$R_f = \frac{3,6}{5,6}$$

$$= 0,64$$

$$R_f = \frac{5,4}{5,6}$$

$$= 0,96$$

$$R_f = \frac{1,5}{5,6}$$

$$= 0,27$$

$$R_f = \frac{1,8}{5,6}$$

$$= 0,32$$

$$R_f = \frac{3,8}{5,6}$$

$$= 0,68$$

SG 10B

$$R_f = \frac{0,2}{5,6}$$

$$= 0,04$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6}$$

$$= 0,71$$

$$R_f = \frac{2,2}{5,6}$$

$$= 0,39$$

$$R_f = \frac{4,2}{5,6}$$

$$= 0,75$$

$$R_f = \frac{0,4}{5,6}$$

$$= 0,07$$

$$R_f = \frac{2,4}{5,6}$$

$$= 0,43$$

$$R_f = \frac{4,6}{5,6}$$

$$= 0,82$$

$$R_f = \frac{0,6}{5,6}$$

$$= 0,11$$

$$R_f = \frac{2,6}{5,6}$$

$$= 0,46$$

$$R_f = \frac{4,9}{5,6}$$

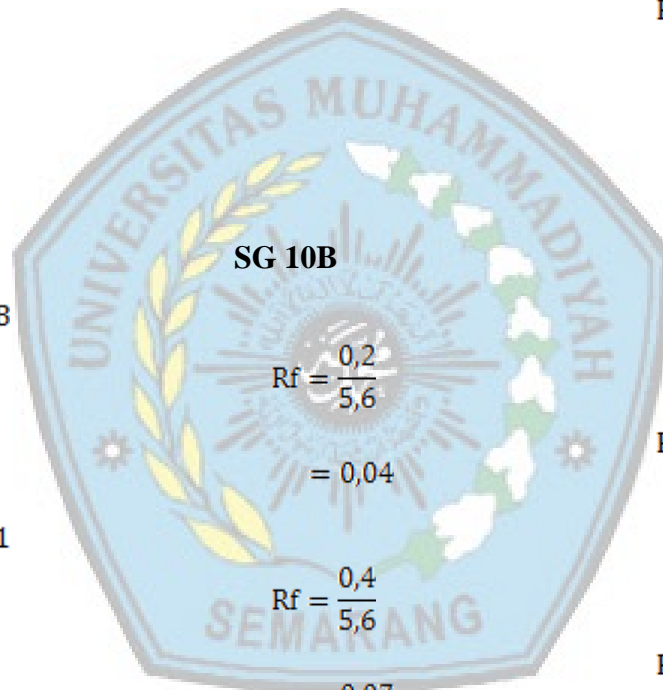
$$= 0,87$$

$$R_f = \frac{0,7}{5,6}$$

$$= 0,12$$

$$R_f = \frac{2,9}{5,6}$$

$$= 0,52$$



$$R_f = \frac{3,1}{5,6}$$

$$= 0,55$$

$$R_f = \frac{5,2}{5,6}$$

$$= 0,93$$

$$R_f = \frac{0,8}{5,6}$$

$$= 0,14$$

$$R_f = \frac{3,8}{5,6}$$

$$= 0,68$$

$$R_f = \frac{5,4}{5,6}$$

$$= 0,96$$

$$R_f = \frac{1,0}{5,6}$$

$$= 0,18$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6}$$

$$= 0,71$$

$$R_f = \frac{1,2}{5,6}$$

$$= 0,21$$

$$R_f = \frac{4,3}{5,6}$$

$$= 0,77$$

$$R_f = \frac{2,0}{5,6}$$

$$= 0,36$$

$$R_f = \frac{4,4}{5,6}$$

$$= 0,78$$

$$R_f = \frac{0,2}{5,6}$$

$$= 0,04$$

$$R_f = \frac{2,2}{5,6}$$

$$= 0,39$$

$$R_f = \frac{4,6}{5,6}$$

$$= 0,82$$

$$R_f = \frac{0,4}{5,6}$$

$$= 0,07$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6}$$

$$= 0,71$$

$$R_f = \frac{4,8}{5,6}$$

$$= 0,86$$

$$R_f = \frac{0,6}{5,6}$$

$$= 0,11$$

$$R_f = \frac{5,3}{5,6}$$

$$= 0,95$$



$$R_f = \frac{0,6}{5,6}$$

$$= 0,11$$

$$R_f = \frac{2,4}{5,6}$$

$$= 0,43$$

$$R_f = \frac{0,8}{5,6}$$

$$= 0,14$$

$$R_f = \frac{2,9}{5,6}$$

$$= 0,52$$

$$R_f = \frac{0,9}{5,6}$$

$$= 0,16$$

$$R_f = \frac{3,6}{5,6}$$

$$= 0,64$$

$$R_f = \frac{1,0}{5,6}$$

$$= 0,18$$

$$R_f = \frac{4,2}{5,6}$$

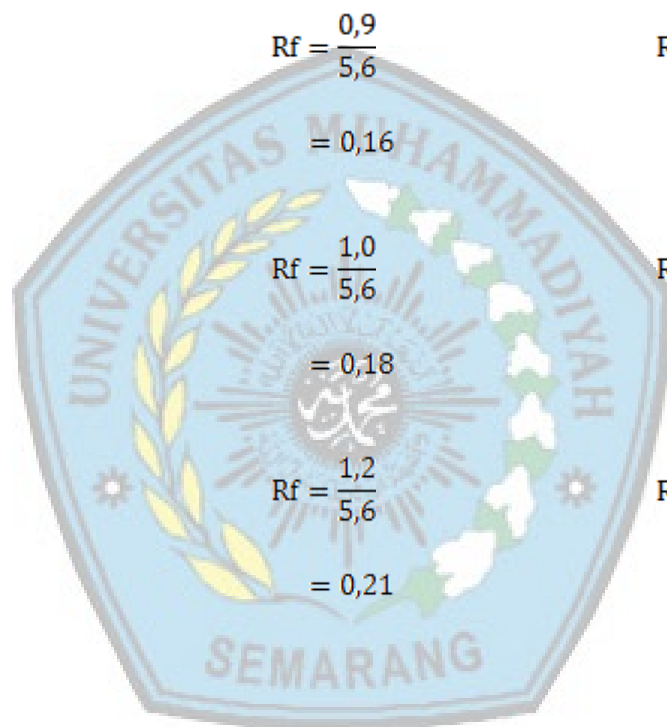
$$= 0,75$$

$$R_f = \frac{1,2}{5,6}$$

$$= 0,21$$

$$R_f = \frac{4,4}{5,6}$$

$$= 0,78$$



SG 12A

$$R_f = \frac{0,2}{5,6}$$

$$= 0,04$$

$$R_f = \frac{2,0}{5,6}$$

$$= 0,36$$

$$R_f = \frac{5,4}{5,6}$$

$$= 0,96$$

$$R_f = \frac{0,4}{5,6}$$

$$= 0,07$$

$$R_f = \frac{2,2}{5,6}$$

$$= 0,39$$

$$R_f = \frac{0,5}{5,6}$$

$$= 0,09$$

$$R_f = \frac{3,0}{5,6}$$

$$= 0,53$$

$$R_f = \frac{0,7}{5,6}$$

$$= 0,12$$

$$R_f = \frac{3,2}{5,6}$$

$$= 0,57$$

$$R_f = \frac{0,9}{5,6}$$

$$= 0,16$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6}$$

$$= 0,71$$

$$R_f = \frac{1,1}{5,6}$$

$$= 0,19$$

$$R_f = \frac{4,6}{5,6}$$

$$= 0,82$$

$$R_f = \frac{1,4}{5,6}$$

$$= 0,25$$

$$R_f = \frac{5,5}{5,6}$$

$$= 0,98$$

$$R_f = \frac{1,8}{5,6}$$

$$= 0,32$$

SG 16A

$$R_f = \frac{0,2}{5,6}$$

$$= 0,04$$

$$R_f = \frac{2,3}{5,6}$$

$$= 0,41$$

SG 19A

$$R_f = \frac{0,2}{5,6}$$

$$= 0,04$$

$$R_f = \frac{2,9}{5,6}$$

$$= 0,52$$

$$R_f = \frac{5,3}{5,6}$$

$$= 0,95$$

$$R_f = \frac{0,6}{5,6}$$

$$= 0,11$$

$$R_f = \frac{3,1}{5,6}$$

$$= 0,55$$

$$R_f = \frac{5,4}{5,6}$$

$$= 0,96$$

$$R_f = \frac{0,7}{5,6}$$

$$= 0,12$$

$$R_f = \frac{3,3}{5,6}$$

$$= 0,59$$

$$R_f = \frac{0,8}{5,6}$$

$$= 0,14$$

$$R_f = \frac{3,7}{5,6}$$

$$= 0,66$$

$$R_f = \frac{1,6}{5,6}$$

$$= 0,28$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6}$$

$$= 0,71$$

$$R_f = \frac{2,4}{5,6}$$

$$= 0,43$$

$$R_f = \frac{4,5}{5,6}$$

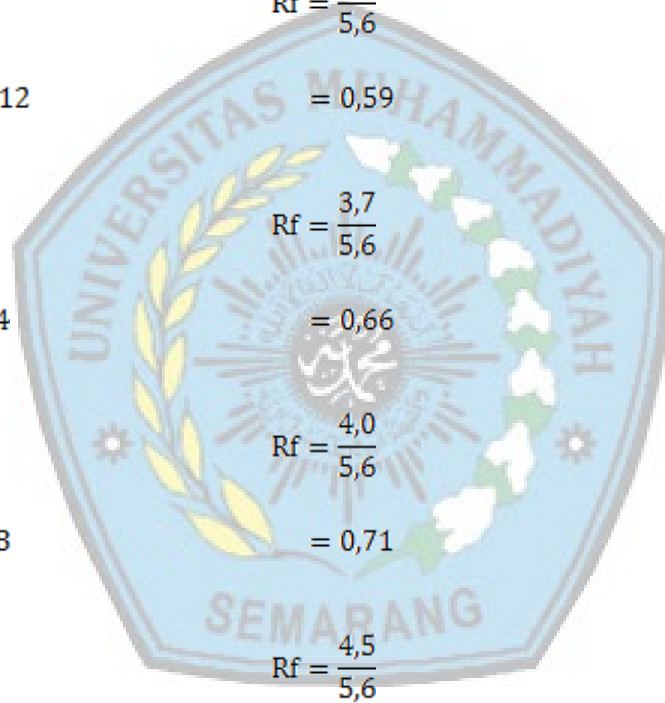
$$= 0,80$$

$$R_f = \frac{2,7}{5,6}$$

$$= 0,48$$

$$R_f = \frac{5,1}{5,6}$$

$$= 0,91$$



SG 20B

$$R_f = \frac{0,2}{5,6}$$

$$= 0,04$$

$$R_f = \frac{2,3}{5,6}$$

$$= 0,41$$

$$R_f = \frac{3,3}{5,6}$$

$$= 0,59$$

$$R_f = \frac{0,5}{5,6}$$

$$= 0,09$$

$$R_f = \frac{2,5}{5,6}$$

$$= 0,45$$

$$R_f = \frac{3,8}{5,6}$$

$$= 0,68$$

$$R_f = \frac{0,7}{5,6}$$

$$= 0,12$$

$$R_f = \frac{4,0}{5,6}$$

$$= 0,71$$

$$R_f = \frac{0,9}{5,6}$$

$$= 0,16$$

$$R_f = \frac{2,8}{5,6}$$

$$= 0,50$$

$$R_f = \frac{4,4}{5,6}$$

$$= 0,78$$

$$R_f = \frac{1,4}{5,6}$$

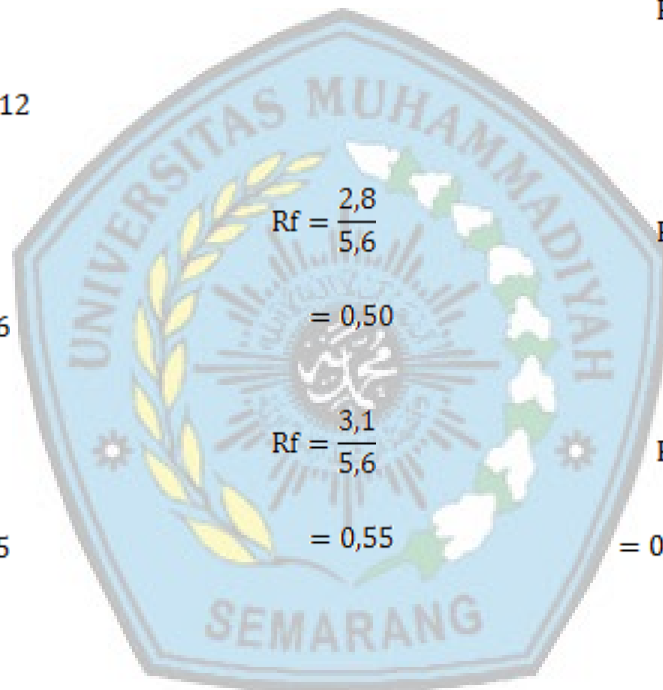
$$= 0,25$$

$$R_f = \frac{3,1}{5,6}$$

$$= 0,55$$

$$R_f = \frac{4,9}{5,6}$$

$$= 0,87$$



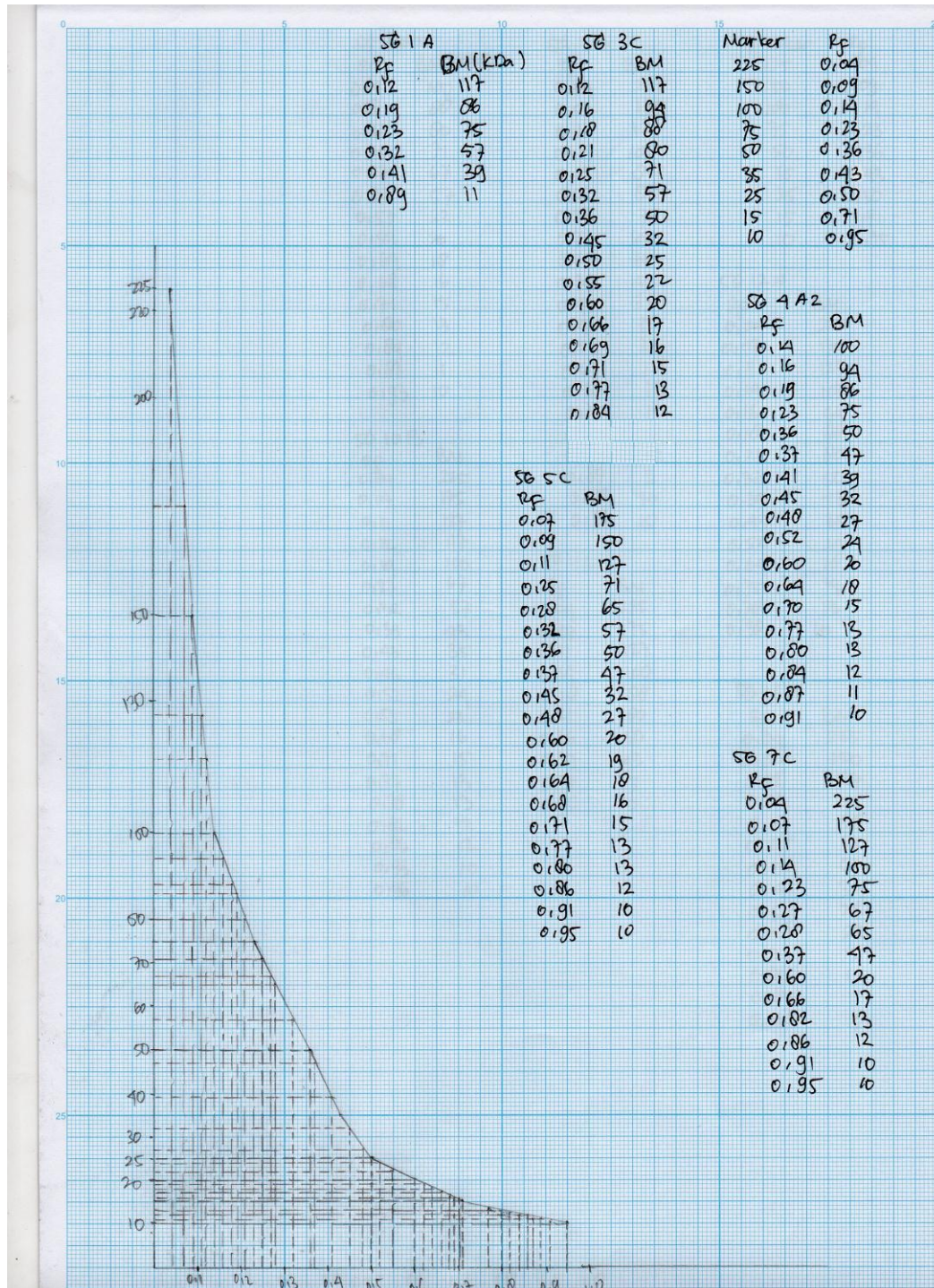
Tabel Nilai Rf dari 13 Strain Bakteri *Escherichia coli*

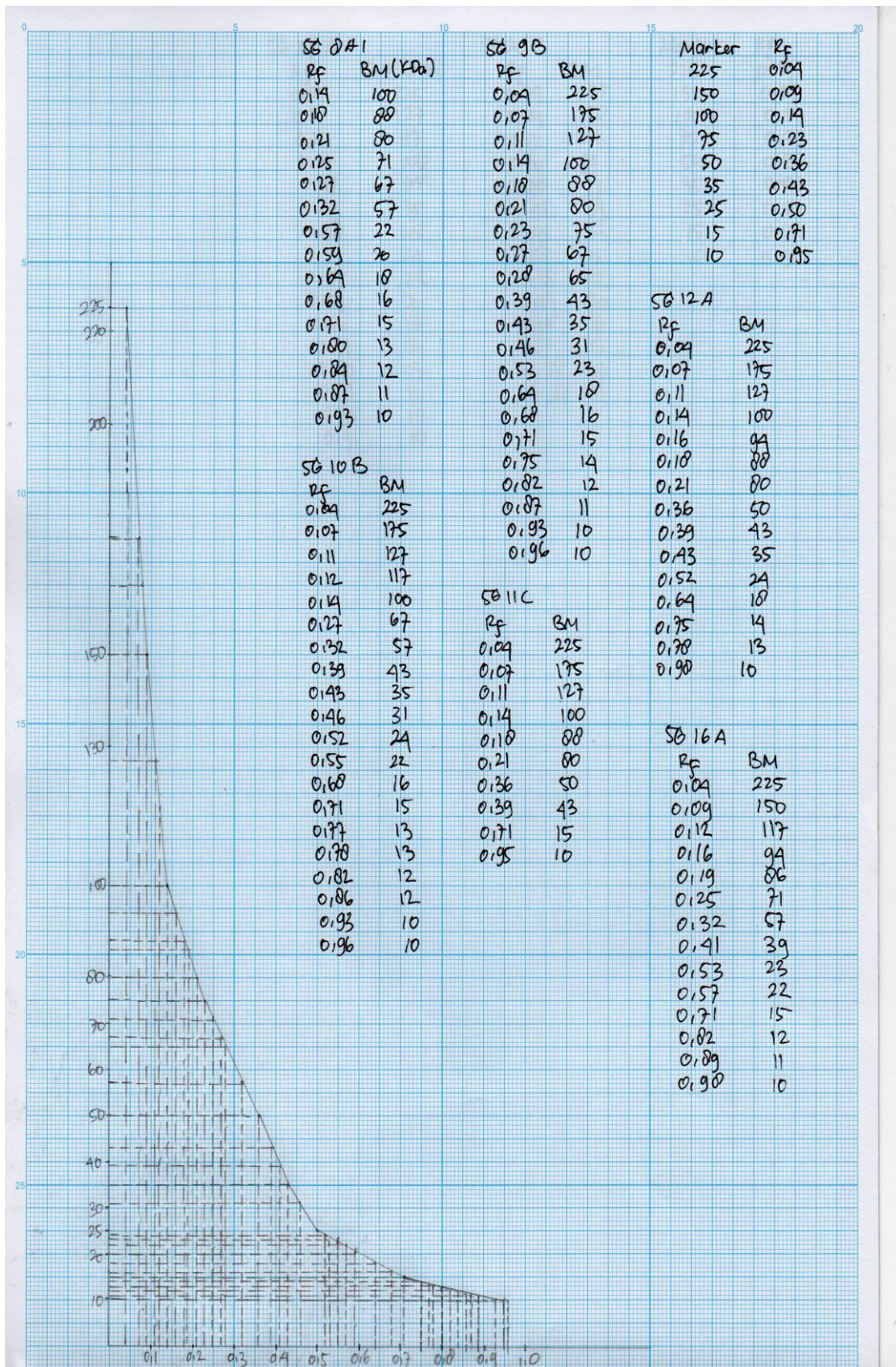
Bakteri <i>Escherichia coli</i>	Retardation Factor (Rf)																				
R1 (SG 1A)	0,12	0,19	0,23	0,32	0,41	0,89															
R2 (SG 3C)	0,12	0,16	0,18	0,21	0,25	0,32	0,36	0,45	0,50	0,55	0,60	0,66	0,69	0,71	0,77	0,84	0,89				
R3 (SG 4A.2)	0,14	0,16	0,19	0,23	0,36	0,37	0,41	0,45	0,48	0,52	0,60	0,64	0,70	0,77	0,80	0,84	0,87	0,91			
R4 (SG 5C)	0,07	0,09	0,11	0,25	0,28	0,32	0,36	0,37	0,45	0,48	0,60	0,62	0,64	0,68	0,71	0,77	0,80	0,86	0,91	0,95	
R5 (SG 7C)	0,04	0,07	0,11	0,14	0,23	0,27	0,28	0,37	0,60	0,66	0,82	0,86	0,91	0,95							
R6 (SG 8A.1)	0,14	0,18	0,21	0,25	0,27	0,32	0,57	0,59	0,64	0,68	0,71	0,80	0,84	0,87	0,93						
R7 (SG 9B)	0,04	0,07	0,11	0,14	0,18	0,21	0,23	0,27	0,28	0,39	0,43	0,46	0,53	0,64	0,68	0,71	0,75	0,82	0,87	0,93	0,96
R8 (SG 10B)	0,04	0,07	0,11	0,12	0,14	0,27	0,32	0,39	0,43	0,46	0,52	0,55	0,68	0,71	0,77	0,78	0,82	0,86	0,93	0,96	
R9 (SG 11C)	0,04	0,07	0,11	0,14	0,18	0,21	0,36	0,39	0,71	0,95											
R10 (SG 12A)	0,04	0,07	0,11	0,14	0,16	0,18	0,21	0,36	0,39	0,43	0,52	0,64	0,75	0,78	0,98						
R11 (SG 16A)	0,04	0,09	0,12	0,16	0,19	0,25	0,32	0,41	0,53	0,57	0,71	0,82	0,89	0,98							
R12 (SG 19A)	0,04	0,11	0,12	0,14	0,28	0,43	0,48	0,52	0,55	0,59	0,66	0,71	0,80	0,91	0,95	0,96					
R13 (SG 20B)	0,04	0,09	0,12	0,16	0,25	0,41	0,45	0,50	0,55	0,59	0,68	0,71	0,78	0,87							

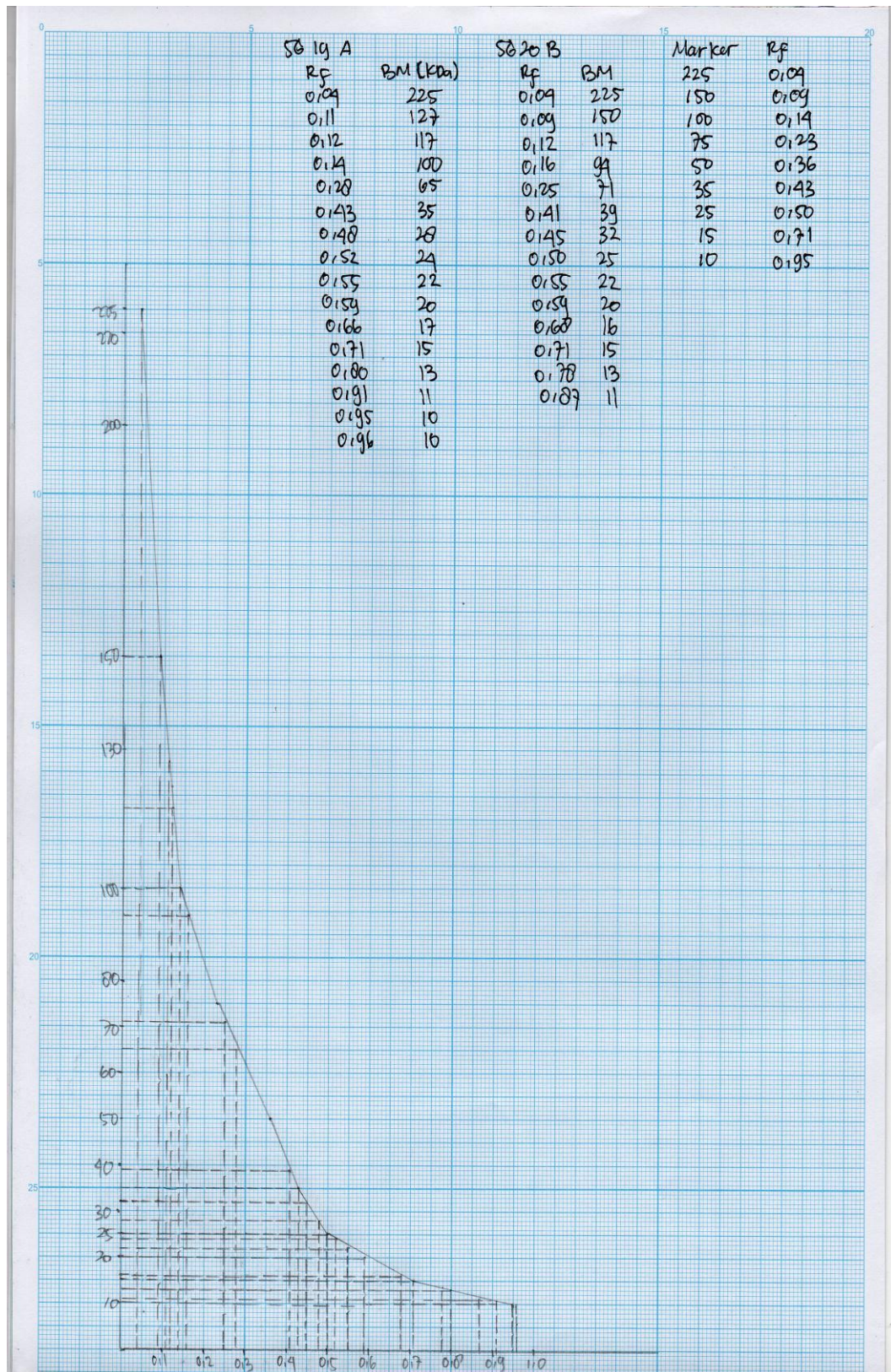
Keterangan : Nilai Rf didapatkan dari perhitungan. (Lampiran)

LAMPIRAN 4.

PENGKURAN BERAT MOLEKUL



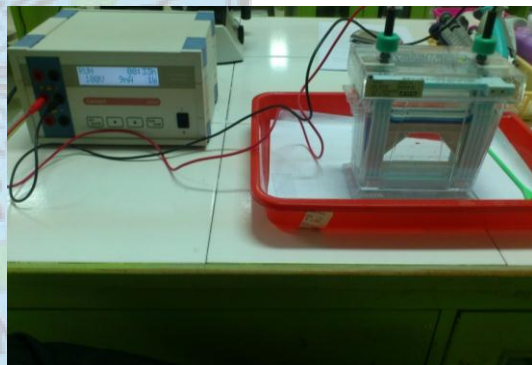
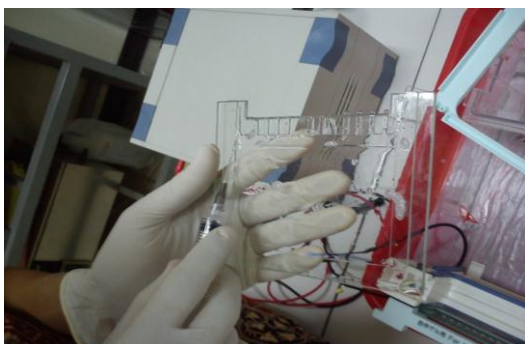
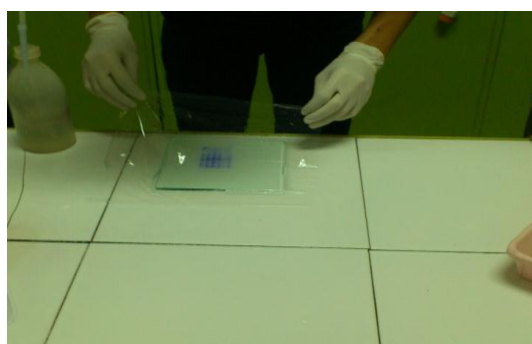




Tabel Berat Molekul Protein dari 13 Strain Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri <i>Escherichia coli</i>	Berat Molekul (KDa)														
	117	86	75	57	39	11	32	25	22	17	16	15	13	12	
R1 (SG 1A)	117	86	75	57	39	11	50	32	25	22	17	16	15	13	12
R2 (SG 3C)	117	94	88	80	71	57	39	32	27	24	20	18	15	13	12
R3 (SG 4A.2)	100	94	86	75	50	47	39	32	27	24	20	18	15	13	12
R4 (SG 5C)	175	150	127	71	65	57	50	47	32	27	20	19	18	16	15
R5 (SG 7C)	225	175	127	100	75	67	65	47	20	17	13	12	10	10	10
R6 (SG 8A.1)	100	88	80	71	67	57	22	20	18	16	15	13	12	11	10
R7 (SG 9B)	225	175	127	100	88	80	75	67	65	43	35	31	23	18	16
R8 (SG 10B)	225	175	127	117	100	67	57	43	35	31	24	22	16	15	13
R9 (SG 11C)	225	175	127	100	88	80	50	43	15	10					
R10 (SG 12A)	225	175	127	100	94	88	80	50	43	35	24	18	14	13	10
R11 (SG 16A)	225	150	117	94	86	71	57	39	23	22	15	12	11	10	
R12 (SG 19A)	225	127	117	100	65	35	28	24	22	20	17	15	13	11	10
R13 (SG 20B)	225	150	117	94	71	39	32	25	22	20	16	15	13	11	

Keterangan : Untuk mengetahui Berat Molekul (BM), Rf yang sudah diketahui nilainya diplotkan pada grafik logaritmik dengan BM (Marker) yang sudah diketahui nilainya (Lampiran)

LAMPIRAN 5.**DOKUMENTASI****Gambar 8. Reagen Penelitian****Gambar 9. Alat-alat penelitian****Gambar 10. Proses Sonikasi****Gambar 11. Runing Sampel****Gambar 12. Pelepasan Gel****Gambar 13. Pengepresan Gel**