

## **Karakter Permukaan *Escherichia coli* yang Diisolasi dari Susu Kambing Peranakan Ettawah yang Berperan terhadap Kemampuan Adesi pada Sel Epitelium Ambing**

### ***Escherichia coli* Surface Characters of Ettawah Cross Breed Goats Milk on the Adhesion Ability of Mammary Epithelial Cells**

**Lalita Prasiddhanti<sup>1</sup>, A.E.T.H. Wahyuni<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada  
 E-mail:dhantilalita@yahoo.com

#### **Abstract**

*Escherichia coli* is a bacteria that may cause mastitis in goats. The ability of bacteria to infect is influenced by surface characters of each bacterial cell. Adhesion of bacteria on the udder epithelial cells plays an important role in the incidence of subclinical mastitis. The purpose of this study was to determine the surface characters of *Escherichia coli* colony morphology, such as the presence of polysaccharides capsule, hemagglutination activity and hydrophobicity contributes to the adhesion process. Three isolates of *Escherichia coli* isolated from Ettawah cross breed goats on Mandiri and Pangestu Farm at Turi, Sleman, Yogyakarta were used in the study. The ability of *E. coli* to fermentize lactose was done by examining its ability in fermented lactose on eosin methylene blue. Hemagglutination ability was seen by hemagglutination test using sheep erythrocytes at concentrations of 0.5%, 1%, 1.5% and 2%, respectively. Hydrophobicity expression was done by salt aggregation test using ammonium sulfate ( $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$ ) at concentrations of 1.2 M, 1.6 M, 2.0 M, 2.4 M and 3.2 M, respectively. The presence or absence of sera proteins was tested with sera soft agar, and the ability of adhesion was done by adhesion of *Escherichia coli* which has been marked by fluorescein isothiocyanate, with rats udder epithelial cells after birth. The results showed that isolates of *E. coli* with dry surface characters had a thin polysaccharide capsule, positive hemagglutination, and hydrophobic, which had the ability to stick more on the udder epithelial cells after birth. Meanwhile, those with mucoid surface characters, had a thick polysaccharide capsule, negative hemagglutination, and hydrophilic which had a lower adhesion ability.

**Key words:** *Escherichia coli*, characteristics, epithelial cell, adhesion, udder

#### **Abstrak**

*Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang dapat menyebabkan mastitis pada kambing. Kemampuan bakteri ini untuk menginfeksi dipengaruhi oleh karakter masing-masing sel bakteri. Adesi bakteri pada sel epitelium ambing berperan penting pada kejadian mastitis subklinis. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakter *E. coli* yang meliputi adanya kapsul polisakarida, kemampuan hemaglutinasi, sifat hidrofobitas yang berperan dalam proses adesi. Tiga isolat *E. coli* diisolasi dari kambing Peranakan Ettawah di peternakan Mandiri dan Pangestu di Turi, Sleman, Yogyakarta. Kemampuan *E. coli* memfermentasikan laktosa terlihat dengan kemampuannya memfermentasikan laktosa pada media eosin methylene blue. Kemampuan hemaglutinasi dilihat dari kemampuan menghemaglutinasi eritrosit kambing dengan konsentrasi, masing-masing 0,5%, 1%, 1,5% dan 2%. Sifat hidrofobitas dilakukan dengan metode salt aggregation test menggunakan amonium sulfat ( $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$ ) dengan konsentrasi, masing-masing 1,2 M, 1,6 M, 2,0 M, 2,4 M dan 3,2 M. Keberadaan kapsul polisakarida dilakukan dengan uji serum soft agar, sedangkan kemampuan adesi dilakukan dengan mengadesikan *E. coli* yang telah terlabel fluorescein isothiocyanate dengan sel-sel epitelium ambing tikus pasca melahirkan. Hasilnya menunjukkan, bahwa isolat *E. coli* yang mempunyai karakter permukaan kering, memiliki kapsul polisakarida yang tipis, hemaglutinasi positif, dan hidrofobik mempunyai kemampuan yang tinggi untuk menempel pada sel-sel epitelium pada ambing tikus pasca melahirkan. Sementara itu, *E. coli* dengan karakter permukaan mukoid, dengan kapsul polisakarida yang tebal, hemaglutinasi negatif, dan bersifat hidrofilik mempunyai kemampuan adesi yang lebih rendah.

**Kata kunci:** *Escherichia coli*, karakteristik, sel-sel epitelium, adesi, ambing

## Pendahuluan

Pada saat ini, masyarakat mulai menggemari susu kambing sebagai salah satu cara untuk mencukupi kebutuhan protein hewani. Hal ini timbul dari kenyataan bahwa susu kambing memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan susu sapi. Susu kambing menjadi pilihan bagi yang tidak cocok mengonsumsi susu sapi (*lactose intolerance*). Susu kambing rendah laktosa sehingga tidak menimbulkan diare. Menurut berbagai penelitian, susu kambing mengandung lebih banyak protein dan fluorin, selain itu susu kambing juga dapat berfungsi sebagai *immunomodulator* yang baik

Dalam perkembangannya, produksi susu kambing juga mengalami beberapa kendala. Salah satu kendala terbesar adalah penyakit mastitis yang masih banyak menyerang peternakan-peternakan kambing. Mastitis adalah radang glandula mamaria yang biasanya disebabkan oleh bakteri. Bakteri yang sering menyebabkan mastitis, antara lain: *Staphylococcus aureus* koagulase positif dan negatif, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disagalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus zooepidermicus* dan *Escherichia coli* (Fernández, 1998; Subronto, 2003).

*Escherichia coli* merupakan bakteri koliform, biasanya bersifat motil dengan flagela peritrikus dan fimbria. *E. Coli* mampu memfermentasikan laktosa dengan menghasilkan asam dan gas pada suhu 44°C, menghasilkan koloni pink pada Mac Conkey agar dan memiliki reaksi biokimia pada uji IMCIV, bersifat merah metil (*methyl red*) positif, *voges-proskauer* (VP) negatif. Beberapa galur menghasilkan koloni *methalic sheen* pada *eosin*

*methylene blue*. Aktifitas hemolitiknya pada plat agar darah merupakan salah satu karakter *E. coli* (Quinn *et al.*, 2002; Juliantina *et al.*, 2007).

Somatik (O), flagelar (H), dan kapsular (K) merupakan antigen pada serotipe *E. Coli*. Antigen somatik merupakan lipopolisakarida dan terletak pada permukaan dinding sel. Spesifikasi antigen tersebut ditentukan dari rantai karbohidrat. Antigen flagelar (H) merupakan protein dan antigen kapsular terdiri dari polisakarida. Antigen *proteinaceous fimbriae* (F) berperan sebagai *adhesin* yang berfungsi dalam perlekatan pada permukaan mukosa (Quinn *et al.*, 2002). Aktifitas adesi merupakan salah satu faktor penting dalam proses patogenesis suatu penyakit. Proses adesi melibatkan beberapa faktor. Faktor penting dalam proses adesi adalah adanya karakter permukaan yang terdiri dari pili, kapsul, dan fimbria.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui karakter *E. coli* yang meliputi adanya kapsul polisakarida, kemampuan hemaglutinasi dan sifat hidrofobisitas yang berperan dalam proses adesi.

## Materi dan Metode

Pada penelitian ini, digunakan 37 sampel susu yang terdiri dari 18 sampel dari peternakan Pangestu dan 19 sampel dari Mandiri, kemudian ditanam dalam media PAD. Penanaman pada PAD dengan metode cawan gores dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pengamatan dilakukan terhadap morfologi koloni bakteri (Jawetz *et al.*, 2001). Media PAD memiliki kandungan yang meliputi *tripticase soy agar* atau *beef heart infusion* dengan 5% darah domba (Bailey and Scott, 1962). Setelah itu dilakukan pewarnaan Gram, penanaman bakteri pada media *eosin methylene blue* dan stok bakteri

pada BHA.

Karakterisasi *E. coli* dilakukan dengan uji-uji fenotip. Uji fenotip dilakukan dengan cara penanaman bakteri pada medium *triple sugar iron*, penanaman bakteri pada agar urea, uji motilitas, IMVIC, uji gula-gula.

Untuk uji hemaglutinasi (HA) eritrosit, maka ekstrak bakteri diperoleh dengan cara menumbuhkan *enterobacter* pada 10 ml BHI dan diinkubasi 37° C selama 18-24 jam. Suspensi bakteri disentrifus dengan kecepatan 3000 rpm/menit, kemudian dicuci dengan PBS 3 kali, masing-masing dilakukan selama 2-3 menit. Sel bakteri yang telah dicuci, dilakukan penyetaraan jumlah bakteri dengan larutan BaSO<sub>4</sub> konsentrasi 24x10<sup>8</sup> (Mc Farland nomor 8). Konsentrasi eritrosit dibuat menjadi 0,5%, 1%, 1,5%, dan 2% dengan cara eritrosit yang telah dicuci dimasukkan ke dalam tabung *pack cell volume* (PCV) dan dilakukan sentrifus lagi selama 10-15 menit (Beard, 1989). Uji HA yang dilakukan adalah Uji HA lambat.

Untuk uji hidrofobisitas, maka lima puluh µl bakteri dicampurkan dengan 50 µl larutan amonium sulfat di atas gelas objek, kemudian diaduk dengan tusuk gigi steril dan diamati terjadinya agregasi (Ljungh *et al.*, 1985).

Uji keberadaan kapsul dengan SSA dilakukan dengan cara, yaitu bakteri ditanam dalam 2 ml BHI pada suhu 37° C selama 18-24 jam tanpa digoyang. Selanjutnya, dari biakan BHI diambil satu mata usa dan disuspensikan ke dalam 10 ml PBS, kemudian dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Suspensi bakteri ditanam ke dalam 10 ml media SSA (10 ml BHI + 0,15% agar + 50 µl serum kelinci), dengan usa runcing. Media SSA yang telah diinokulasi bakteri, di-*vortex* selama 2 menit, kemudian diinkubasikan pada suhu 37° C selama 18-

24 jam (Forsum *et al.*, 1972).

Untuk uji adhesi pada sel epitelium ambing tikus, sel-sel epitelia ambing tikus dikerok dengan menggunakan spatel dan disuspensikan ke dalam MEM dan dibuat konsentrasinya menjadi 10<sup>5</sup> dengan perhitungan menggunakan hemositometer. Menurut Mather and Roberts (1998) perhitungan konsentrasi sel epitelium dapat digunakan rumus:

$$C = n \times v$$

Keterangan :

C = konsentrasi sel-sel epitelia per ml;

n = jumlah sel-sel epitelia yang terhitung dalam 1 mm<sup>2</sup>;

v = volume yang dihitung = 10<sup>4</sup>

Bakteri ditanam dalam 10 ml BHI diinkubasi 37°C selama 18-24 jam, kemudian sentrifugasi selama 10 menit, dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan dibuang, pelet dicuci dengan cairan PBS dan diulangi sampai 3 kali. Sel bakteri yang telah dicuci, disetarakan dengan larutan BaSO<sub>4</sub> untuk memperoleh jumlah bakteri dengan konsentrasi 24x10<sup>8</sup>. Satu ml suspensi bakteri masing-masing ditambah FITC (Sigma; 1 mg/ml), kemudian diinkubasi pada suhu 25° C selama 1 jam, setelah itu dilakukan sentrifugasi lagi menggunakan MEM dengan kecepatan 5000 rpm selama 5 menit 2-3 kali. Pelet bakteri yang telah diperoleh ditambah dengan 1 ml sel-sel epitelia ambing tikus (10<sup>5</sup> sel/ml). Suspensi tersebut diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C, kemudian disentrifuse dengan kecepatan 5000 rpm selama 2-3 kali dengan menggunakan MEM. Larutan bakteri dan sel-sel epitelia ambing diteteskan pada gelas objek dan ditutup dengan *cover slip*. Jumlah bakteri yang melekat pada sel-sel epitelia ambing dihitung dengan bantuan mikroskop *fluorescent* dengan pembesaran 100 kali.

Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan cara menghitung jumlah bakteri yang melekat pada tiap sel dari 20 sel-sel epitelia ambing (Wibawan and Lammler, 1992).

### Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini mengambil sampel di dua

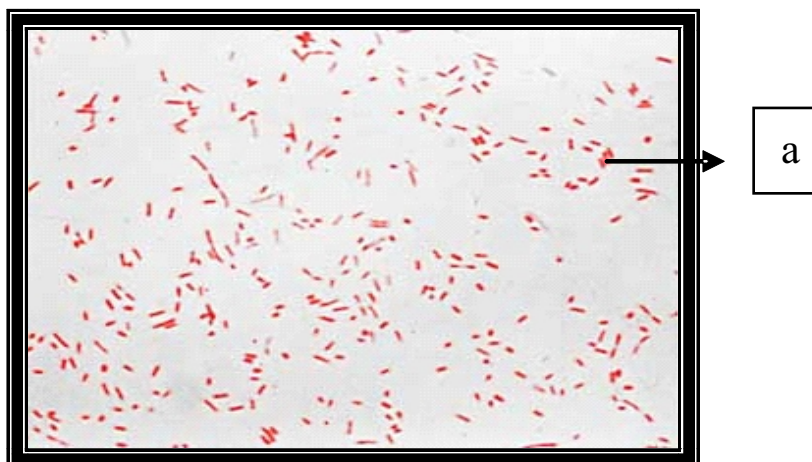
peternakan, yaitu Pangestu dan Mandiri yang keduanya terletak di Turi Sleman, Yogyakarta dan terdapat 37 sampel yang diambil pada kedua peternakan tersebut. Seluruh sampel kemudian di tanam pada media plat agar darah (PAD) untuk melihat morfologi koloni. Hasil penanaman pada PAD terbagi menjadi beberapa bentuk koloni. Hasil penanaman bakteri pada PAD terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Prosentase morfologi koloni 37 sampel kambing PE pada plat agar darah

Koloni	Jumlah	Persentase (%)
Putih halus	25	33,3
Putih kering	4	5,3
Putih hemolitik	4	5,3
Putih transparan	5	6,7
Kuning hemolitik terang	2	2,7
Kuning hemolitik hijau	2	2,7
Kuning non hemolitik halus	6	8,0
Kuning non hemolitik kuning	4	5,3
Ireguller kuning	1	1,3
Ireguller halus	9	12,0
Fungi like	13	17,3
Total	75	100

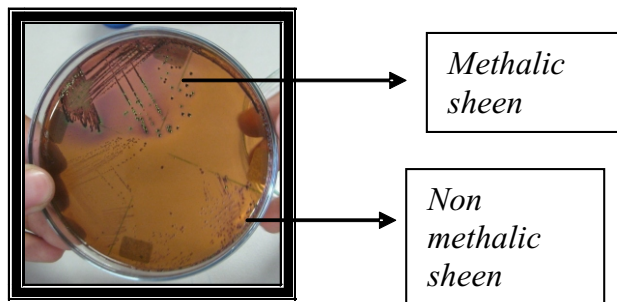
Pewarnaan Gram menunjukkan morfologi bakteri *coccobasil* yang berwarna merah. Hasil pewarnaan Gram ini menunjukkan 12 isolat yang memiliki morfologi sel *coccobasil* dan Gram negatif. Gambar

morfologi *Enterobacteriaceae* hasil pewarnaan Gram di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 100 kali ditampilkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Hasil pengecatan Gram Isolat PH A3y tampak bakteri berbentuk *coccobasil* dan berwarna merah (a)

Dua belas isolat ini kemudian ditanam pada media *eosin methylene blue* (EMB). Hasil penanaman bakteri pada media EMB terlihat pada Gambar 2.



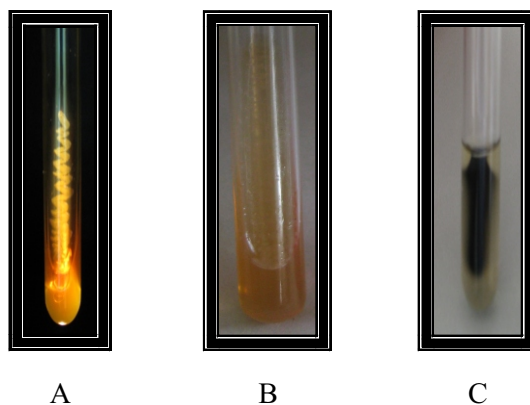
Gambar 2. Hasil penanaman bakteri *Enterobacteriaceae* pada media *eosin methylene blue*

Tabel 2. Sifat pertumbuhan bakteri *Enterobacteriaceae* pada media EMB

Asal	Isolat	Sifat pertumbuhan pada EMB
Pangestu	PH A3y	FL, <i>met. sheen</i>
	PK A2y	NFL, <i>colorless</i>
	KNK A5x	FL, <i>met.sheen</i>
Mandiri	IH A3y	NFL, <i>coolorless</i>
	PH B10x	NFL, <i>colorless</i>
	KNK B3x	NFL, <i>colorless</i>
	IH B6y	FL, <i>met.sheen</i>

Keterangan : FL : Fermented Laktosa  
 NFL : Non Fermented Laktosa  
*Met. sheen* : Memproduksi *methalic sheen*  
*Colorless* : Tidak menghasilkan *methalic sheen*

Hasil uji TSI, Urea, dan motilitas ditampilkan dalam Gambar 3.



Gambar 3. Hasil pengujian *Enterobacteriaceae* pada media TSI, Urea, Motilitas menunjukkan: (A) TSI positif, (B) urease negatif, (C) motil.

Pada uji motilitas, terdapat enam isolat bersifat motil kecuali pada isolat PK A2y. Sifat motilitas terlihat dari menyebarnya pertumbuhan bakteri di sekitar tusukan. Hasil uji TSI, urea, dan motilitas ditunjukkan pada Tabel 3.

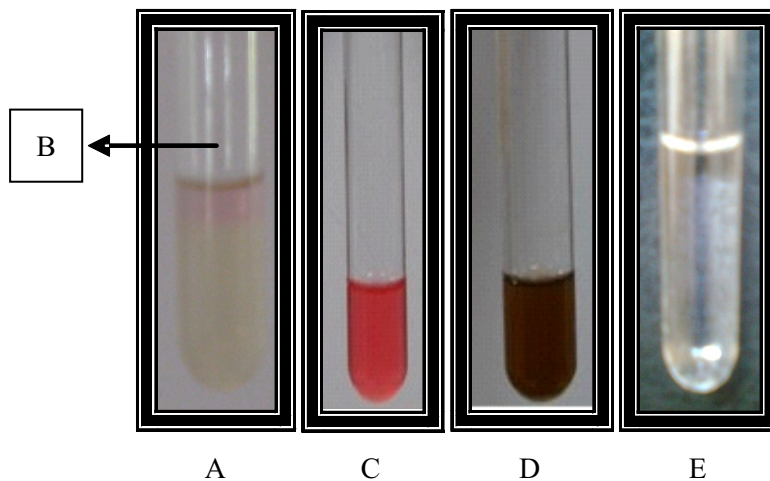
Tabel 3. Hasil uji TSI *Enterobacteriaceae* isolat kambing PE di Sleman

Asal	Sampel	TSI		Gas	Urea	M	H <sub>2</sub> S
		G	LS				
Pangestu	PH A3y+	+	-	-	+	-	
	PK A2y-	-	-	-	-	-	
	KNK A5x	+	+	-	-	+	-
	IH A3y +	-	-	+	+	-	
Mandiri	PH B10x	+	+	-	-	+	-
	KNK B3x	+	+	-	-	+	-
	IH B6y +	+	-	-	+	✓	

Keterangan: TSI : *Triple sugar iron*      M : Motilitas  
 G : Glukosa                                      + : hasil positif  
 S : Sukrosa                                        (-) : hasil negatif  
 L : Laktosa                                        ✓ : terbentuk H<sub>2</sub>S

Dari uji TSI, urea, dan motilitas selanjutnya dilakukan uji IMVIC untuk mengetahui karakter lebih lanjut. Uji IMVIC terdiri dari empat uji yaitu uji indol, *methyl-red*, Voges Proskauer, dan sitrat. Uji

pertama, yaitu uji indol. Hasil positif pada pengujian indol, methyl red, dan hasil negatif pada uji Voges-Proskauer, dan sitrat ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil pada uji indol, methyl red, Voges-Proskauer, dan sitrat. (A) Uji indol, (B) Terbentuk cincin merah pada uji Indol, (C) Uji *methyl red*, (D) Uji Voges-Proskauer, dan (E) uji sitrat



Uji gula-gula digunakan untuk melihat kemampuan bakteri yang mampu memfermentasikan gula-gula seperti laktosa, glukosa, dan sukrosa.

Hasil pengujian IMVIC dan gula-gula ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil uji IMVIC *Enterobacteriaceae* isolat kambing PE di Sleman

Asal	Sampel	IMVIC				Gula-gula		
		I	MR	VP	C	G	S	L
Pangestu	PH A3y+	+	-	-	+	+	+	
	PK A2y+	-	-	-	-	-	-	
	KNK A5x	+	+	-	-	+	-	+
	IH A3y -	-	+	-	+	-	-	
Mandiri	PH B10x	-	-	-	+	+	+	+
	KNK B3x	+	-	+	+	+	+	+
	IH B6y +	+	-	-	+	+	+	

Keterangan: I : Indol (-) : Hasil negatif  
 MR : *Methyl-red* G : Glukosa  
 VP : Voges-Proskauer S : Sukrosa  
 C : Sitrat L : Laktosa  
 (+) : Hasil positif

Hasil pengujian 7 isolat *Enterobacteriaceae* ini menunjukkan bahwa terdapat tiga isolat yang teridentifikasi *Escherichia coli* dari hasil TSI, motilitas, dan IMVIC. Ketiga isolat tersebut kemudian diuji hemaglutinasi. Uji aglutinasi

eritrosit digunakan untuk membedakan subgrup dari varietas yang patogen, prinsip uji ini seperti pada *complement-fixation test* dan *agglutinin-adsorption test* (Pelczar and Roger, 1958). Hasil uji hemaglutinasi ditunjukkan pada Tabel 5.

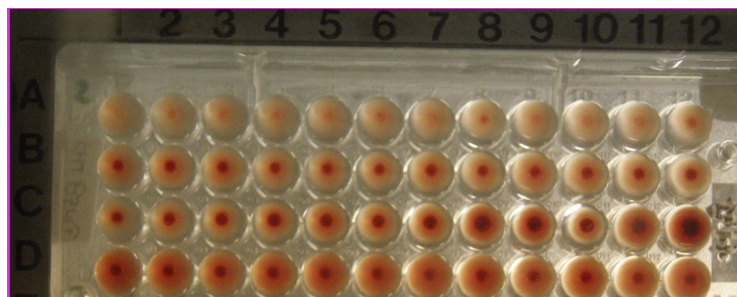
Tabel 5. Data hasil uji hemaglutinasi *Escherichia coli* isolat kambing PE di Sleman

Asal	Kode	HA Cepat(%)				HA lambat (%)			
		0,5	1	1,5	2	0,5	1	1,5	2
Pangestu	PH A3y	+	+	+	+	-	-	-	2 <sup>1</sup>
	KNK A5x	+	+	+	+	-	2 <sup>5</sup>	-	2 <sup>7</sup>
Mandiri	IH B6y	+	+	+	+	-	-	-	-

Keterangan: + : positif  
 - : negatif  
 2<sup>1</sup>: titer bakteri = 2HA unit bakteri (hasil positif hanya pada sumuran no.1)  
 2<sup>5</sup>: titer bakteri = 32 HA unit bakteri (hasil positif sampai pada sumuran no.5)  
 2<sup>7</sup>: titer bakteri = 128 HA unit bakteri (hasil positif sampai pada sumuran no.7)

Hasil positif terlihat dari aglutinasi eritrosit saat disuspensikan dengan bakteri sehingga tampak agregasi seperti pasir (Gambar 5). Kapsul polisakarida dapat mempengaruhi hemaglutinasi eritrosit oleh bakteri. Adanya kapsul polisakarida

dapat menutupi ekspresi hemaglutinin yang mungkin terdapat di bawah kapsul (Wibawan *et al.*, 2005). Gambar hasil uji hemaglutinasi *E. coli* ditampilkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Uji hemaglutinasi *Escherichia coli* dengan eritrosit pada konsentrasi 0,5%, 1%, 1,5%, 2%: (A-D) *E. coli* pada berbagai tingkat konsentrasi; (1-11) Tingkat pengenceran *E. coli*, (A1-11) Uji HA positif B,C,D; (1-11) Uji HA negatif; (12) Kontrol (PBS + eritrosit).

Sifat hidrofobisitas dapat diuji melalui uji *salt aggregation test* (SAT) dengan garam fisiologis (Han *et al.*, 2000). Menurut Lehninger (1990), amonium sulfat pekat dapat digunakan untuk menentukan

derajat hidrofobisitas yang ditentukan oleh kemampuan dalam menarik molekul air dan mengendapkan protein. Hasil uji hidrofobisitas *E. coli* ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Data hasil uji hidrofobisitas *Escherichia coli* isolat kambing PE dari peternakan di Sleman dengan metode SAT

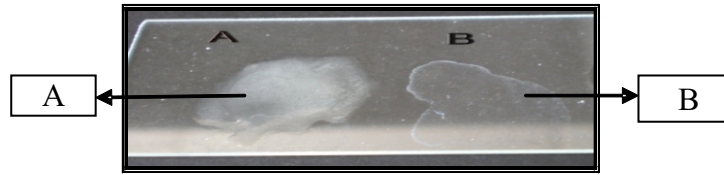
Asal	Kode	Hidrofobisitas (M)				
		1,2	1,6	2,0	2,4	3,2
Pangestu	PH A3y	+	+	+	+	+
	KNK A5x	-	-	-	+	+
Mandiri	IH B6y	+	+	+	+	+

Keterangan : + : positif= mampu mengagregasi ammonium sulfat  
 - : negatif= tidak mampu mengagregasi ammonium sulfat

Isolat yang mampu mengagregasi ammonium sulfat pada semua konsentrasi adalah PH A3y dan IH B6y. Isolat KNK A5x hanya mampu mengagregasi amonium sulfat pada beberapa konsentrasi. Isolat yang mampu mengagregasi seluruh atau hanya beberapa konsentrasi amonium sulfat menunjukkan bahwa isolat ini mempunyai kapsul yang tipis, sehingga tidak dapat menutupi seluruh permukaan protein. Bakteri yang berkapsul sempurna tidak akan diagregasikan oleh amonium sulfat karena kapsul

menutupi dinding sel protein. Dari hasil diatas terlihat bahwa pada isolat PH A3y dan IH B6y yang memiliki koloni mukoid bersifat hidrofob . Menurut Salasia *et al.* (2002) koloni yang memiliki koloni mukoid bersifat hidrofil. Hal ini kemungkinan disebabkan karena kedua isolat ini mempunyai kapsul namun susunan proteinnya lebih banyak daripada karbohidrat sehingga mampu teragregasi oleh ammonium sulfat. Hasil uji hidrofobisitas *E. coli* dengan metode SAT ditampilkan pada Gambar 6.





Gambar 6. Hasil uji hidrofobisitas *Escherichia coli* dengan SAT menunjukkan: (A) Reaksi (+): terjadi agregasi; (B) Reaksi (-): tidak terjadi agregasi

Untuk menguji adanya kapsul atau tidak, salah satu caranya adalah dengan menggunakan uji *serum soft agar* (SSA). Uji SSA merupakan metode sederhana yang digunakan untuk *screening* bakteri yang

memiliki kapsul yang ditunjukkan dengan pertumbuhan difus (Forsum *et al.*, 1972). Hasil pengujian *E. coli* menggunakan media SSA ditunjukkan pada Tabel 7.

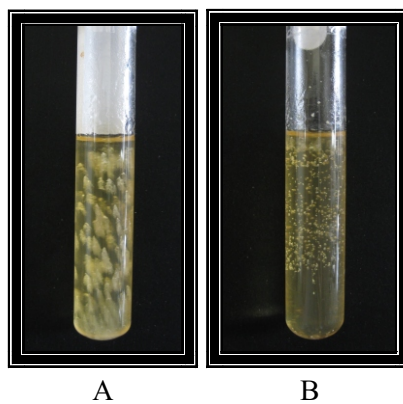
Tabel 7. Data hasil uji dengan metode SSA isolat kambing PE di Sleman

Asal	Kode	SA	SSA
Pangestu	PH A3y	difus	difus
	KNK A5x	difus	difus
Mandiri	IH B6y	difus	difus

Keterangan: SA = *Soft agar*  
SSA = *Serum soft agar*

Dari ketiga isolat *E. coli* di atas menunjukkan hasil yang sama yaitu terlihat pertumbuhan difus baik pada media SA maupun pada media SSA seperti yang ditunjukkan pada Gambar 7. Menurut Forsum *et al.* (1972) pertumbuhan kompak merupakan hasil reaksi antara *clumping factor* dengan penurunan produksi fibrinogen dan juga merupakan reaksi

antara protein A dengan bagian Fc dari IgG. *Escherichia coli* tidak memiliki protein A karena protein ini merupakan ciri khas dari *Staphylococcus aureus*, namun uji ini dapat digunakan untuk melihat adanya kapsul polisakarida pada *Escherichia coli*. Hasil uji pada media SSA ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Perbandingan pertumbuhan koloni yang bersifat difus dan kompak pada media SSA menunjukkan: (A) Difus; (B) Kompak

Pertumbuhan koloni difus pada media SA dan SSA menunjukkan bahwa ketujuh isolat ini memiliki kapsul polisakarida. Pada *Staphylococcus aureus*, pertumbuhan seperti ini menunjukkan bahwa bakteri ini tidak memiliki protein A atau memiliki protein A tinggi tetapi tertutup kapsul (Forsum *et al.*, 1972). Pada *E. Coli*, uji ini tidak untuk menunjukkan adanya protein A namun hanya digunakan untuk mengetahui ada atau tidaknya kapsul.

Pada penelitian ini, uji adesi *E. coli* menggunakan ambing tikus laboratorium (*Rattus norvegicus*) pasca melahirkan, yaitu sekitar 14 hari pasca melahirkan. Suspensi bakteri yang telah diberi

FITC diinkubasi terlebih dahulu dengan sel epitelium pada suhu 37°C selama 1 jam.

Bakteri yang memiliki hemaglutinin menunjukkan kemampuan adhesi yang jauh lebih baik dibandingkan dengan bakteri yang tidak memiliki hemaglutinin (Tabel 8). Kemampuan adhesi ini berkaitan dengan keberadaan hemaglutinin di permukaan sel bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri diselaputi oleh kapsul polisakarida. Menurut Baselga *et al.* (1993), yang mengemukakan bahwa adhesi diperantarai oleh kapsul polisakarida dan reseptor protein pada permukaan sel epitel mukosa ambing.

Tabel 8. Hasil karakterisasi dan uji adesi *Escherichia coli*

Asal	Kode	Permukaan Koloni	Pigmentasi pada EMB	HA	SAT	SSA	Adesi
Pangestu	PH A3y	Mukoid	<i>Met.sheen</i>	+	+	Difus	11,85
	KNK A5x	Kering	<i>Met.sheen</i>	+	+	Difus	8,25
Mandiri	IH B6y	Mukoid	<i>Met.sheen</i>	-	+	Difus	8,45

Pada isolat PH A3y yang selaras dengan isolat IH B6y yaitu sama-sama bersifat mukoid dan tumbuh difus pada *serum soft agar*. Hal ini berarti bahwa kedua isolat tersebut memiliki kapsul polisakarida yang cukup. Adanya kapsul ini mempengaruhi tingkat hemaglutinasi, hidrofobisitas, dan adesi. Hal ini sudah sesuai dengan teori yang ada bahwa adanya kapsul polisakarida yang tebal akan menghambat pembentukan agregat pada uji hemaglutinasi karena kapsul poliisakarida akan menutupi ekspresi hemaglutinin. Dilihat dari uji hidrofobisitas, hasilnya kurang sesuai dengan teori yang ada. Bakteri yang berkapsul sempurna tidak akan diagregasikan oleh ammonium sulfat karena kapsul menutupi dinding sel protein (Rozgonyi *et al.*, 1991;

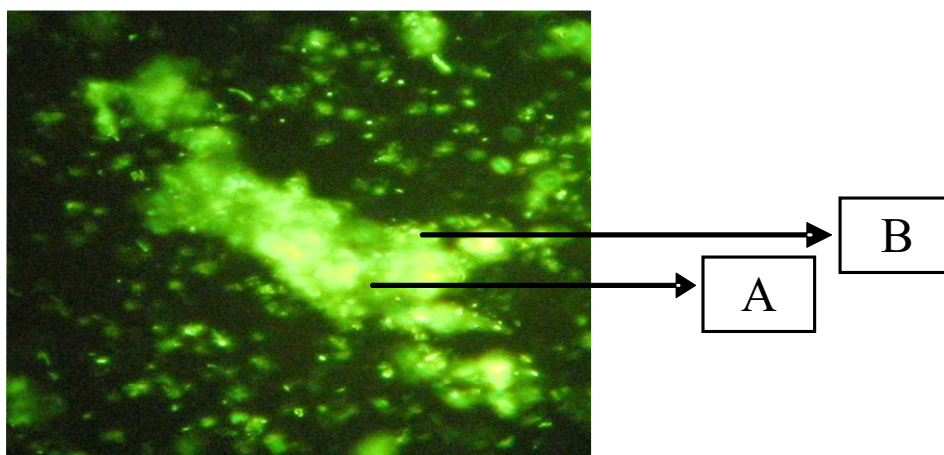
Wibawan *et al.*, 1992). Pada uji hidrofobisitas, kedua isolat sama-sama menunjukkan bahwa bakteri tersebut diagregasikan oleh amonium sulfat, hal ini karena kedua isolat memiliki protein yang lebih banyak sehingga tetap mampu teragregasi oleh amonium sulfat. Dari keseluruhan uji, hasilnya menunjukkan cukup signifikan antara uji adesi dengan hasil dari uji SSA, hemaglutinin, dan sifat mukoid bakteri. Jika dibandingkan dengan *Staphylococcus aureus*, nilai adesi *E. coli* cenderung lebih rendah. Bakteri yang mempunyai kemampuan menghemaglutinasi eritrosit yang rendah juga memiliki kemampuan adesi atau melekat yang rendah. Hal ini dikarenakan bakteri yang memiliki hemaglutinin menunjukkan kemampuan adhesi yang jauh lebih baik dibandingkan dengan bakteri

yang tidak memiliki hemaglutinin. Kemampuan adesi selain ditentukan oleh hemaglutinin juga dipengaruhi oleh hidrofobisitas bakteri (Wahyuni, 1998).

Hasil uji adesi isolat KNK A5x menunjukkan hasil 8,25. Isolat KNK A5x memiliki karakter permukaan yang kering pada PAD. Menurut Wibawan *et al.* (1999), koloni yang kasar memiliki kapsul polisakarida yang tipis sehingga bakteri mampu mengaglutinasi eritrosit dan memiliki hidrofobisitas yang tinggi karena protein dalam permukaan sel bakteri tidak tertutup kapsul secara sempurna sehingga mudah diagregasi (Rozgonyi *et al.*, 1991; Wibawan *et al.*, 1992). Bakteri yang bersifat hidrofob mempunyai kemampuan melekat pada sel-sel epitel lebih tinggi. Kondisi ini juga dilihat dari sifat hemaglutinasi positif pada eritrosit kambing (Kusnan dan Siti, 2006). Menurut Wahyuni *et al.* (2005) bakteri yang memiliki hemaglutinin menempel pada sel epitel ambing jauh lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak memiliki hemaglutinin.

Pada isolat KNK A5x menunjukkan hasil difus pada media SSA. Koloni yang kasar pada PAD seharusnya menunjukkan pertumbuhan kompak pada media SSA, namun pada isolat ini menunjukkan hasil difus. Hal ini dimungkinkan karena bakteri tersebut terdapat pada fase varian. Pada fase varian, bakteri yang seharusnya tumbuh kompak bisa menjadi tumbuh difus. Pada uji hemaglutinin, isolat ini menunjukkan tingkat hemaglutinasi yang tinggi dan titernya dapat mencapai angka  $2^7$ . Bakteri dengan koloni yang kasar mempunyai kapsul polisakarida yang tipis sehingga mampu mengaglutinasi eritrosit (Wibawan *et al.*, 1999b). Hasil uji hemaglutinasi ini signifikan dengan uji hidrofobisitas yang tinggi, sehingga memiliki kemampuan melekat pada epitel ambing yang tinggi pula walaupun tidak setinggi hasil kedua isolat yang lain. Menurut Wahyuni (1998) kemampuan adesi selain ditentukan oleh hemaglutinin juga dipengaruhi oleh hidrofobisitas bakteri.

Kemampuan adesi *Escherichia coli* yang diamati di bawah mikroskop *fluoreCent* perbesaran 100 kali ditampilkan dalam Gambar 8.



Gambar 8. Hasil uji adesi pada *Escherichia coli* di sel epitel ambing tikus. (A) sel epitelium ambing tikus dan (B) sel bakteri.

Adesi *Escherichia coli* terjadi pada sel reseptor hospes yang spesifik. Kebanyakan reseptor adesi yang telah diidentifikasi pada level molekuler adalah karbohidrat. Kapsul polisakarida yang dimiliki dapat menutup komponen permukaan sehingga menurunkan kemampuan adesi bakteri terhadap permukaan sel epitel, namun bakteri berkapsul diduga dapat mengembangkan sistem lain yang menghambat fagositosis dari sel radang polimorfonuklear (Wibawan *et al.*, 1998). Bakteri yang memiliki kemampuan adesi rendah salah satunya disebabkan karena tidak memiliki sistem yang dapat menghambat proses fagositosis sehingga jumlah bakteri yang terfagosit rendah. Tingginya kemampuan fagositosis hospes menyebabkan rendahnya jumlah bakteri yang menempel. Pada Gram positif, faktor utama penentu kemampuan adesi adalah adanya protein pada dinding sel bakteri, sedangkan pada Gram negatif kemampuan adesi ditentukan oleh intimin dan fimbria yang tidak begitu dominan. Hal inilah yang membedakan kemampuan adesi Bakteri Gram positif lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri Gram negatif.

Berdasarkan hasil penelitian ini terhadap tiga isolat *E. coli* yang berasal dari peternakan Pangestu dan Mandiri di Turi Sleman, dapat disimpulkan, bahwa isolat PH A3y dengan koloni mukoid, hemaglutinasi rendah, bersifat hidrofob, menghasilkan koloni difus pada SSA, memiliki tingkat adesi 11,85. Isolat IH B6y dengan koloni mukoid, hemaglutinasi negatif, hidrofob, menghasilkan koloni difus pada SSA, memiliki tingkat adesi 8,45, sedangkan isolat KNK A5x dengan koloni kering, hemaglutinasi positif, hidrofob, menghasilkan koloni difus, memiliki tingkat adesi 8,25.

## Ucapan Terima Kasih

Kami selaku peneliti mengucapkan terimakasih kepada semua pihak yang mendukung terlaksananya penelitian ini. Semoga penelitian ini memberikan informasi baru dan dapat bermanfaat bagi banyak pihak.

## Daftar Pustaka

- Bailey, W., Robert, Elvyn, G. and Scott, M. T. (1962) *Diagnostic Microbiology*. Saint Louis. The C. V. Mosby Company.
- Baselga, R., Albizu, I., Cruz, M. D. L., Cacho, E.D., Barberan, M. and Amonera, B. (1993) Phase variation of slime production in *Staphylococcus aureus*: Implication in colonization and virulence. *Infect. Immun.* 61: 4857-4862.
- Fernández-Garayzabal, F., Fernández, E., Las Heras, A., Pascual, C., Collins, M.D. and Domínguez, L. (1998) *Streptococcus parasanguinis*: New pathogen associated with asymptomatic mastitis in sheep. Universidad Complutense, Madrid, Spain; and BBSRC Institute of Food Research, Reading, United Kingdom.
- Forsum, Urban, Forsgren, E. and Eva Hjelm, E. (1972) Role of protein A in the serum-soft agar technique. *Infect. Immun.* 6: 583-586.
- Han, H-R., Pak, S-II., Kang, S-W., Jong, W-S. and Youn, C-J. 2000. Capsular polysaccharide typing of domestic mastitis-causing *Staphylococcus aureus* strains and its potential exploration of bovine mastitis vaccine development. I. Capsular polysaccharide typing, isolation and purification of the strains. *J. Vet. Sci.* 1: 53-60.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg's. (2001) *Mikrobiologi Kedokteran*. Medika Salemba.
- Kusnan and Siti Isrina Oktavia Salasia. 2006. Respon Neutrofil, Adesi pada Sel Epitel, Aglutinasi Eritrosit terhadap *Staphylococcus aureus*: Kajian Hidrofobitas in Vitro. *J. S. V.* 24: 102-109.

- Lehninger, A. I. (1990) *Dasar-Dasar Biokimia*. Jilid I (diterjemahkan oleh Maggy Thenawijaya). Penerbit Erlangga. Jakarta. 313.
- Ljungh, A., Stellan, H. and Wadstorm, T. (1985) High surface hydrophobicity of autoaggregating *Staphylococcus aureus* strains isolated from human infections studied with the salt aggregation test. *Infect. Immun.* 47: 522-526.
- Mather, J. P. and Robert, P.E. (1998) Introduction to cell and tissue culture: Theory and technique. Plenum Press. New York and London.
- Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J. C. and Leonard, F. C. 2002. *Veterinary Microbiology and Microbiology Disease*. Blackwell Publishing, UK.
- Rozgonyi, F., Szitha, K. R., Hjerten, S. and Wadstorm, T (1991) Standardization of salt aggregation test for reproducible determination of cell-surface hydrophobicity with special reference to *Staphylococcus species*. *J. Appl. Bacteriol.* 59: 451-457.
- Salasia, S. I. O. (2001) Perlekatan *Streptococcus suis* pada permukaan sel-sel Hospes. *Media Vet.* 8: 47-51.
- Wahyuni, A. E. T. H. (1998) Peran hemaglutinin *Streptococcus agalactiae* dalam proses adesi pada sel epitel sapi perah. *Thesis Magister Sains*. Program Pasca Sarjana IPB, Bogor.
- Wahyuni, A. E. T. H., Wibawan, I.W.T. dan Wibowo, M.H. (2005) Karakterisasi hemaglutinin *Streptococcus agalactiae* dan *Staphylococcus aureus* penyebab mastitis subklinis pada sapi perah. *J.S.V.* 23 (2).
- Wibawan, I. W. T., Laemmler, Ch., and Pasaribu. (1992) Role of hydrophobic surface protein in mediating adherence of *group B Streptococci* to epithelial cells. *J. Gen.Microbiol.* 138: 1237-1242.
- Wibawan, I. W. T., Eva, H., Damayanti, C. S. dan Kammaludin, Z. (2005) Preparasi antiserum terhadap hemaglutinin *Streptococcus agalactiae* dan *Staphylococcus aureus* serta perannya sebagai anti adhesin dan opsonin. *J. Vet.* 6 (2).