

**KOMPOSISI ASAM LEMAK PADA BIOFILM
Escherichia coli ENTEROPATOGEN (EPEC) I2.3**

SEPTIAWAN

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains pada
Departemen Biologi

**DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2004**



Visi: Cipta, Inovasi, dan Unggul
Misi: Meningkatkan kualitas sumber daya manusia yang unggul dan berprestasi
a. Mengembangkan ilmu dan teknologi yang bermanfaat, inovatif, dan berprestasi
b. Mengembangkan ilmu dan teknologi yang bermanfaat, inovatif, dan berprestasi
c. Mengembangkan ilmu dan teknologi yang bermanfaat, inovatif, dan berprestasi

ABSTRAK

SEPTIAWAN. Komposisi Asam Lemak pada Biofilm *Escherichia coli* Enteropatogen I2.3. Dibimbing oleh **SRI BUDIARTI POERWANTO** dan **DJAROT SASONGKO HAMI SENO.**

Escherichia coli (*E. coli*) merupakan bakteri yang secara normal menghuni saluran pencernaan manusia dan hewan. Strain *E. coli* tertentu dapat menyebabkan penyakit saluran pencernaan. Strain *E. coli* enteropatogen (EPEC) dapat menimbulkan penyakit diare. Infeksi EPEC dengan diawali melekatnya sel bakteri pada sel inang. Secara *in vitro* EPEC dapat membentuk biofilm.

Dalam penelitian ini EPEC I2.3 ditumbuhkan pada media *Eosin Methylen Blue*. Kemudian diuji pembentukan biofilm dalam media *Adherence Test Medium* dengan suhu inkubasi 37 °C selama 24 jam. Biofilm yang didapat dianalisis komposisi asam lemaknya. Ekstraksi lemak menggunakan NH₄OH, dietil eter dan petroleum eter (metode *Mojonnier*)

Hasil analisis asam lemak menunjukkan bahwa jenis asam lemak yang terkandung dalam biofilm EPEC I2.3 adalah asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam oleat dan asam linoleat. Asam palmitat menduduki komposisi tertinggi pada biofilm dan suspensi.

ABSTRACT

SEPTIAWAN. Composition of Fatty Acid on Biofilm of the Enteropathogenic *Escherichia coli* bacteria I2.3. Supervised by **SRI BUDIARTI POERWANTO** and **DJAROT SASONGKO HAMI SENO.**

Escherichia coli (*E. coli*) is normal occupant bacteria in digestive track of human and animal. Certain strain is able to causing gastroenteritis. Enteropathogenic *E. coli* strain (EPEC) is able to causing diarrhea disease. Firstly, this bacteria infecting by sticking its cell on the host cell. By *in vitro*, EPEC is able to formed biofilm.

In this research, EPEC I2.3 grew in Eosin Methylen Blue medium. Formed biofilm was tested in Adherence Test Medium with incubated at 37 °C for 24 hours. The fatty acid composition of biofilm was being analyzed. Lipid extraction using NH₄OH, diethyl eter, and petroleum eter (*Mojonnier* method).

The result of fatty acid analysis showed that kinds of fatty acid which contain in biofilm of EPEC I2.3 are myristic acid, palmitic acid, stearic acid, oleic acid and linoleic acid. The composition of palmitic acid is higher than others either in biofilm and suspension



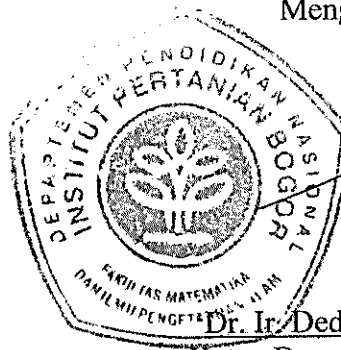
Judul : Komposisi Asam Lemak pada Biofilm *Escherichia coli*
Enteropatogen (EPEC) I2.3
Nama : Septiawan
NIM : G04499066
Departemen : Biologi


Menyetujui,

Dr. dr. Sri Budiarti Poerwanto
Pembimbing Kesatu

Dr. Djarot Sasongko Hami Seno, MS
Pembimbing Kedua

Mengetahui,




Dr. Ir. Dede Setiadi, MS
Ketua Departemen Biologi

Tanggal Lulus: 03 FEB 2004

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 8 September 1979 dari Ayah Wowo Ruswan Hardijaya dan Ibu Maryanah. Penulis merupakan anak pertama dari tiga bersaudara.

Tahun 1999 penulis lulus dari SMU Islam Panglima Besar Sudirman dan pada tahun yang sama diterima menjadi mahasiswa Institut Pertanian Bogor melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI), Penulis memilih Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selain mengikuti perkuliahan, penulis menjadi Sekretaris Umum Himpunan Mahasiswa Biologi (HIMABIO) pada tahun 2002-2003, Ketua Paguyuban Mahasiswa Biologi (PAMABI) pada tahun 2002-2003, dan anggota Departemen PSDK Wahana Muslim Mahasiswa Biologi (WM-HIMABIO) pada tahun 2002-2003. Penulis juga melakukan praktik lapangan (PL) pada bulan Juni sampai Juli 2002 dengan judul Analisis Produk Susu Secara Mikrobiologis di PT Ultrindo Intijaya, Pekayon, Jakarta Timur.

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Februari 2003 ialah Komposisi Asam Lemak pada Biofilm *Escherichia coli* Enteropatogen (EPEC) I2.3.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr. dr. Sri Budiarti Poerwanto dan Dr. Djarot Sasongko Hami Seno, MS, selaku pembimbing. Penghargaan penulis sampaikan kepada Mba Dewi, Ibu Tati, Pak Ace, Pak Mardi, Pak Teguh, Mba Lina, Mba Iksi, Teh Pepi, Mas Khattib, Pak Kosasih dan Pak Mulya yang telah memberi saran dan bantuan selama penelitian berlangsung. Ungkapan terima kasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, Mang Ayat, Bi Eli, Teh Tuti serta teman seperjuangan: Adi, Irman, Rina HP, Roesma, Marina, Muharani, Nurul Jatningsih, Evi Iuvina, Diana Yulianti, Jonathan, Cecil dan Sherly. Kepada Heriko, Asep, Dian, Ridwan, Hermawan, Teh Evi, Kak Cahya, Kak Amsi, teman-teman di BAFAK-10, Al-Hilal-22, DC-8 dan semua sobat ABIOLA 36 yang tidak bisa disebutkan satu-persatu terima kasih atas saran, doa dan dukungannya.

Semoga karya tulis ini bermanfaat.

Bogor, September 2003

Septiawan

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
PENDAHULUAN	1
BAHAN DAN METODE	
Waktu dan Tempat	1
Bahan	1
Peremajaan isolat	2
Uji pembentukan biofilm	2
Analisis Asam Lemak	2
HASIL DAN PEMBAHASAN	
Uji Pembentukan Biofilm Untuk Persiapan Analisis Asam Lemak	3
Analisis Asam Lemak	3
KESIMPULAN	5
SARAN	5
DAFTAR PUSTAKA	5
LAMPIRAN	7

DAFTAR TABEL

	Halaman
I Asam lemak yang terdapat pada biofilm EPEC I2.3 dengan konsentrasi bakteri 10^8 sel/ml	4

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1 Hubungan penampakan biofilm dengan konsentrasi bakteri EPEC I2.3	3

Visi Cipta, Berprestasi, Unggul dan Berdaya
1. Dihasilkan merupakan sarung dan sarung yang bisa terinspirasi oleh sarung dan sarung yang ada
2. Berprestasi dalam sarung dan sarung yang bisa terinspirasi oleh sarung dan sarung yang ada
3. Berprestasi dalam sarung dan sarung yang bisa terinspirasi oleh sarung dan sarung yang ada

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1 Rumus untuk menghitung kadar asam lemak	8
2 Standar asam lemak	9
3 Asam lemak pada biofilm EPEC I2.3	10
4 Asam lemak pada suspensi EPEC I2,3	11

PENDAHULUAN

Penyakit gastroenteritis atau yang lebih dikenal diare merupakan salah satu penyakit penting di Indonesia yang masih merupakan penyebab utama kesakitan dan kematian anak. Individu yang terjangkiti diare banyak mengeluarkan tinja cair lebih dari tiga kali sehari tanpa adanya darah. Selama bulan Januari 2003 dinas kesehatan kota di Surabaya menunjukkan, sebanyak 8.530 pasien terjangkit diare. Sejak tahun 1996 hingga 2002, jumlah penderita diare tercatat paling banyak diderita warga kota Surabaya pada tahun 1998 dengan 114.185 orang. Hampir Sepuluh penderitanya dari kalangan anak di bawah lima tahun [<http://www.kompas.com/Kompas-cetak/0301/14/metro/81638>]. Salah satu penyebab diare adalah bakteri.

Escherichia coli enteropatogen (EPEC) merupakan bakteri penyebab diare yang menyerang bayi dan anak-anak dibandingkan orang dewasa di negara-negara berkembang (Levine 1987). Penelitian Budiarti (1997) mendapatkan bahwa 55% bayi dan anak-anak penderita diare terinfeksi EPEC. Interaksi EPEC dalam menginfeksi diawali dengan melekatnya sel bakteri pada sel inang. Kamaliah (2000) melaporkan bahwa semua isolat EPEC yang digunakan dalam penelitiannya mampu membentuk biofilm. Salah satu isolat yang digunakan adalah EPEC I2.3 yang mampu membentuk biofilm paling banyak.

Biofilm dapat diartikan sekumpulan mikroorganisme yang menempel pada substrat tertentu dan polimer ekstraseluler yang dikeluarkan bakteri (Christensen dan Characklis 1990). Dalam hal ini biofilm berkaitan dengan patogenitas bakteri terhadap sel inang dan pertahanan hidup bakteri dari sel fagosit. (Solano *et al.* 1998).

Watnick dan Kolter (2000) mengamati tahap awal pembentukan biofilm diawali dengan pendekatan bakteri ke permukaan substrat dengan kecepatan rendah. Selanjutnya bakteri-bakteri tersebut membentuk asosiasi sementara dengan permukaan substrat dan atau dengan bakteri yang telah menempel sebelumnya. Selanjutnya keutuhan dari asosiasi diatas dipertahankan dengan adanya produk ekstraseluler dari bakteri tersebut yang nantinya membentuk biofilm. Dalam asosiasi tersebut diperlukan adanya komunikasi untuk saling memberi informasi baik sesama bakteri maupun dengan lingkungan sekitar.

Penelitian Damayanti (2001) mendapatkan bahwa pita-pita protein biofilm EPEC I2.3, 0011.4, K1.1 dan Gjl.2 menunjukkan adanya kemiripan pita protein dengan berat molekul kira-kira 45 KDa. Protein ini diduga sebagai komponen biofilm yang merupakan protein sekresi maupun enzim ekstraselular. Selain protein, lipid merupakan komponen utama bakteri.

Pada biofilm bakteri satu dengan yang lain direkatkan oleh Polimer Ekstraselular (PE). PE tersusun atas berbagai senyawa, diantaranya asam lemak (Hami Seno dan Brooker 1998). Asam lemak (*fatty acid*) merupakan senyawa terdiri dari rangkaian hidrokarbon dan satu asam karboksilat (Hames *et al.* 1997). Disamping itu juga asam lemak merupakan komponen pokok membran sel. Penelitian Cronan dan Gelmann (1973) melaporkan bahwa asam lemak jenuh yang terkandung dalam sel bakteri *E. Coli* lebih banyak dibandingkan dengan asam lemak tak jenuh. Telaah tentang komposisi asam lemak pada biofilm EPEC belum diketahui.

Tujuan dari penelitian ini adalah analisis komposisi asam lemak yang terkandung dalam biofilm EPEC I2.3. menggunakan *Gas Cromatografi* (GC).

BAHAN DAN METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Hewan dan Biomedis, Pusat Penelitian Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor dan Laboratorium Terpadu, Institut Pertanian Bogor sejak bulan Februari sampai September 2003.

Bahan

Bakteri yang digunakan ialah EPEC I2.3 yang diisolasi dari penderita diare. *E. coli* non patogen sebagai kontrol negatif diisolasi dari manusia sehat. Bakteri-bakteri tersebut merupakan koleksi Sri Budiarti, Laboratorium Bioteknologi Hewan dan Biomedis, Pusat Penelitian Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Peremajaan Isolat

Satu isolat EPEC I2.3 dan satu isolat *E. coli* non patogen sebagai kontrol negatif ditumbuhkan pada media *Eosin Methylen Blue* (EMB) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Koloni tunggal yang menampilkan warna hijau kilap logam ditumbuhkan pada media *Luria Agar* (LA) yang terdiri dari NaCl 1%, *Bacto Triptone* 1%, *Yeast Extract* 0.5%, *Bacto Agar* 1.5% dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 12 jam. Kemudian biakan disimpan pada suhu 4 °C untuk digunakan sebagai sediaan bakteri uji.

Uji Pembentukan Biofilm

Pembentukan biofilm menggunakan metode Solano *et al* (1998) dengan sedikit modifikasi. Satu isolat EPEC I2.3 dan satu isolat *E. coli* non patogen dari sediaan bakteri ditumbuhkan ke dalam 50 ml media *Luria Bertani* (NaCl 1.5%, *Bacto Triptone* 1%, *Yeast Extract* 0.5%) dan diinkubasi dalam *shakerbath* (Certomat WR) dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 37 °C selama 12 jam. Biakan bakteri diukur absorbansinya dengan spektrofotometer (Pharmacia) pada panjang gelombang 620 nm sampai diperoleh OD= 1 (sekitar 10⁸ CFU/ml pada media LA). Biakan bakteri kemudian disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm (Beckman GPR Centrifuge) pada suhu 4 °C. Endapan yang diperoleh kemudian dicuci dan diresuspensi ke dalam 4 ml *Adherence Test Medium* (ATM) yang terdiri dari NaCl 60 mM, NaHCO₃ 30 mM, KCl 20 mM, dan glukosa 111 mM dan pH 8.4. Suspensi bakteri diinkubasi dalam *orbital shaker* (Lab-line) dengan kecepatan sekitar 200 rpm pada suhu 37 °C. biofilm yang selanjutnya terbentuk dari *E. coli* diisolasi dan diekstrak lemaknya.

Analisis Asam Lemak

a) Ekstraksi lemak EPEC

Prosedur kerja ekstraksi lemak dan analisis asam lemak menggunakan metode *Mojonnier* (Cunniff 1999). Sebanyak 2,4381 g biofilm yang telah diisolasi dari tujuh belas tabung reaksi, dimasukkan ke dalam alat ekstraksi *Mojonnier*. 1.5 ml NH₄OH pekat ditambahkan ke dalam sampel biofilm sambil dikocok perlahan. Selanjutnya ditambahkan 3 tetes indikator phenolftalien tetes demi tetes dan kemudian ditambahkan 10 ml ethanol sambil dikocok perlahan. Campuran tadi ditambahkan diethyl ether dan petroleum ether (40-60 °C) masing-masing sebanyak 25 ml kemudian ditambahkan

10 ml ethanol. Terlihat lapisan fase air dan lapisan fase organik (ekstrak lemak) yang terpisah jelas, fase organik dipisahkan ke dalam gelas piala yang telah ditimbang sebelumnya. Ekstraksi lemak ini dilakukan sebanyak tiga kali, ekstraksi kedua dan ketiga menggunakan petroleum eter dan dietil eter sebanyak 15 ml. Fase organik digabung menjadi satu. Pada tahap akhir, fase organik (ekstrak lemak) dipanaskan. Pemanasan ini bertujuan untuk menghilangkan pelarut organik. Gelas piala yang berisi fase organik dipanaskan di oven sampai pelarut organik habis. Kemudian lemak ditimbang.

b) Preparasi asam lemak EPEC

Sampel lemak yang didapat pada tahap ketiga ditambahkan 1 ml NaOH 0.5 N dalam methanol dan dipanaskan di atas penangas air selama 20 menit. Selanjutnya ditambahkan 2 ml BF₃ 16% dan dipanaskan selama 20 menit. Selanjutnya campuran tadi didinginkan, kemudian ditambahkan 2 ml larutan NaCl jenuh, 1 ml heksana, dan dikocok dengan baik. Lapisan heksana dipindahkan dengan bantuan pipet tetes dan lapisan heksana dimasukkan ke dalam tabung berisi 0.1 g Na₂SO₄ anhidrat lalu biarkan 15 menit. Selanjutnya fase cair dipisahkan (larutan sampel) dan dimasukkan ke dalam vial untuk diinjeksikan ke alat GC.

c) Analisis asam lemak menggunakan Gas Cromatografi

Kromatografi gas (Shimadzu) mempunyai kriteria *Fused Silica Capillary Column*, dengan mode *Cyanopropyl Methyl Sil* yang berukuran 60 meter x 0.25 mm Id dan 0.25 μ film thickness. Dengan suhu injektor 200 °C, suhu detektor 250 °C dan suhu kolom 180 °C.

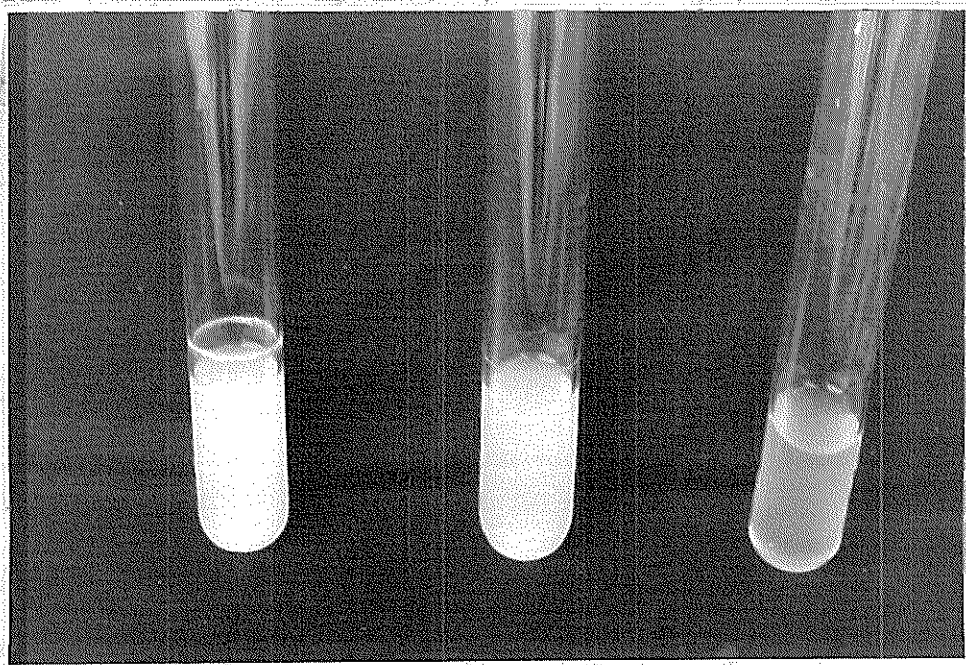
Sebanyak 2 μL pelarut diinjeksikan ke dalam kolom silika, puncak pelarut akan nampak dalam waktu kurang dari 1 menit. Selanjutnya 5 μL campuran standar FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) diinjeksikan ke dalam kolom silika. Bila semua puncak larutan standar sudah tampak, 5 μL larutan sampel diinjeksikan. Kadar asam lemak ditentukan dengan menggunakan rumus yang terdapat pada lampiran 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Pembentukan Biofilm untuk Penyiapan Analisis Asam Lemak

Sebagaimana yang telah didapatkan oleh Kamaliah (2000) bahwa dengan konsentrasi sel bakteri 10^8 sel/ml pembentukan biofilm dapat terjadi maksimum di bandingkan dengan konsentrasi 10^7 dan 10^6 sel/ml (Gambar 1).

Inkubasi bakteri EPEC pada media ATM, pada peneliiian ini dilakukan pada suhu 37°C . Hal ini berdasarkan penelitian sebelumnya (Kamaliah 2000; Damayanti 2001) yang mendapatkan suhu optimal pembentukan biofilm EPEC sekitar suhu 37°C . Suhu merupakan faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri, hal ini berkaitan dengan reaksi-reaksi biokimia yang terjadi dalam sel.



a b c

Keterangan: a. 10^8 sel/ml b. 10^7 sel/ml c. 10^6 sel/ml

Gambar 1 Hubungan penampakan biofilm dengan konsentrasi bakteri.

Kemampuan bakteri untuk membentuk biofilm dipengaruhi oleh faktor-faktor lingkungan, diantaranya kelaparan (Solano *et al* 1998). Media ATM dapat berfungsi untuk mengkondisikan bakteri dalam keadaan lapar karena tidak mengandung beberapa unsur penting seperti nitrogen, fosfor, kalsium, besi dan sulfur. Selain kelaparan, pH media juga mempengaruhi pembentukan biofilm. Pada penelitian ini pH awal media ATM 8.4. Sebagaimana hasil penelitian Damayanti (2001) yang mendapatkan pH optimum pembentukan biofilm sekitar 8. Kim *et al* (2000) melaporkan bahwa pH dapat mempengaruhi kemampuan hidup bakteri.

Analisis Asam Lemak

Sebanyak 2,3481 g biofilm diambil dari tujuh belas tabung reaksi yang dianalisis menunjukkan bahwa biofilm EPEC I2.3 mengandung asam lemak dengan rantai karbon antara C_{14} sampai C_{18} (Tabel 1).

Dari tabel 1 menunjukkan bahwa asam lemak pada biofilm EPEC dengan konsentrasi bakteri 108 sel/ml dan suspensinya mempunyai jenis asam lemak yang sama. Dilihat dari kadarnya asam palmitat dan asam oleat lebih banyak dari pada jenis asam lemak lainnya. Asam lemak pada biofilm yang mengandung bakteri-bakteri *E. coli* beserta produk ekstraseluler dilihat dari kadarnya

lebih sedikit dibandingkan dengan yang ada di suspensi. Hal ini disebabkan tidak semua bakteri yang berada dalam tabung reaksi yang disuspensikan dalam media ATM menempel pada dinding tabung. Sedangkan kadar asam lemak yang terdapat pada suspensi lebih banyak. Ini disebabkan bakteri-bakteri *E. coli* yang tidak menempel tetap melakukan sintesis asam lemak dan mengeluarkannya sebagai produk ekstraseluler.

Asam lemak palmitat merupakan asam lemak yang mempunyai kadar terbesar pada biofilm maupun suspensi. Asam palmitat merupakan asam lemak yang banyak terdapat pada membran sel *E. coli* (Garvin *et al.* 1980). Penelitian lain tentang *E. coli* yaitu yang dilakukan Cronan dan

setelah asam palmitat. Hal ini ada kaitannya dengan adanya suhu pertumbuhan. Pada penelitian Guerzoni *et al.* (2001) menyatakan bahwa dengan bertambahnya suhu pertumbuhan dan faktor stres yang berlipat maka secara relatif asam oleat meningkat.

Data lain menyebutkan bahwa jenis asam lemak C_{14:0}, C_{16:0}, dan C_{18:0} umum dilaporkan sebagai penyusun lipopolisakarida (Madigan *et al.* 2003). Lipopolisakarida merupakan bagian dinding sel pada bakteri gram negatif. Komponen dinding sel ini yang diduga berperan dalam mekanisme penempelan dan pelekatan EPEC pada inang.

Dengan demikian bahwa asam lemak yang terkandung pada membran sel bakteri maupun

Tabel 1 asam lemak yang terdapat pada biofilm EPEC I2.3 dengan konsentrasi bakteri 10⁸ sel/ml

Asam Lemak	Nama Umum	Hasil		Satuan
		Biofilm	Suspensi	
C _{14:0}	Asam miristat	0.68	4.01	mg/100g
C _{16:0}	Asam palmitat	11.04	54.14	mg/100g
C _{18:0}	Asam stearat	0.64	2.57	mg/100g
C _{18:1}	Asam oleat	5.06	18.03	mg/100g
C _{18:2}	Asam linoleat	1.98	11.71	mg/100g

Gelmann (1973) mendapatkan bahwa bakteri *E. coli* yang ditumbuhkan pada suhu pertumbuhan 31-42 °C didapatkan kadar asam palmitat lebih banyak kadarnya. Moreins *et al.* (1996) dalam penelitian tentang *E. coli* yang ditumbuhkan pada berbagai suhu pertumbuhan. Ia mendapat bahwa semakin tinggi suhu pertumbuhan menyebabkan produksi atau komposisi asam lemak pada sel dengan jumlah karbon 16 bertambah.

Biofilm maupun suspensi mengandung asam miristat. Asam miristat menurut Tsay *et al.* (1992) menyatakan bahwa keberadaan asam miristat pada bakteri disebabkan adanya pengurangan dalam proses sintesis asam lemak rantai karbon yang panjang. Pada sebagian bakteri mutan terdapat gangguan dalam proses sintesis asam lemak sehingga asam lemak dengan jumlah atom karbon 16 menjadi sedikit, sebaliknya ekspresi yang berlebihan pada sintesis menyebabkan penurunan rata-rata asam lemak dengan rantai panjang dan terlihat dari jumlah yang signifikan pada asam miristat pada phospholipid.

Asam oleat yang terkandung dalam biofilm dan suspensi mempunyai kadar yang tinggi

sebagai hasil produk ekstraseluler secara langsung maupun tidak langsung berperan dalam penempelan bakteri yang pada akhirnya membentuk biofilm.

Watnick dan Kolter (2000) mengamati tahap pembentukan biofilm yang diawali dengan pendekatan bakteri secara rapat ke permukaan dengan kecepatan rendah. Selanjutnya bakteri-bakteri tersebut membentuk asosiasi sementara dengan permukaan dan atau dengan bakteri yang telah menempel sebelumnya. Asosiasi tersebut memungkinkan bakteri mencari tempat yang cocok untuk menetap. Apabila asosiasi bakteri telah stabil sebagai mikro koloni maka biofilm dapat terbentuk alat gerak seperti pili dan flagella berperan dalam proses awal bakteri melekat pada permukaan sampai mikro koloni stabil. Untuk menjaga kestabilan biofilm bakteri memproduksi produk-produk ekstraseluler, produk ekstraseluler inilah yang berperan dalam mengikat sel-sel organisme dalam biofilm dan membentuk mikro koloni.

Bakteri menggunakan sinyal intraseluler untuk berintegrasi, memproses informasi dari sel bakteri lain dan dari lingkungan sekitarnya.

Komunikasi ini dikenal dengan istilah *quorum sensing*, dan dipengaruhi oleh produksi satu atau beberapa molekul sinyal yang memungkinkan bakteri dapat mengatur kerapatan populasi selnya. Komunikasi interseluler bakteri diperantai oleh produk yang mampu berdifusi dari satu sel ke sel lainnya (Watnick dan Kolter 2000).

KESIMPULAN

Komposisi asam lemak pada biofilm EPEC 12.3 dengan konsentrasi 10^8 sel/ml adalah asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam oleat, dan asam linoleat. Asam palmitat mempunyai kadar yang tinggi dibandingkan dengan asam lemak lainnya pada biofilm maupun suspensi.

SARAN

Sehubungan pentingnya peranan komponen dinding sel bakteri EPEC dalam proses patogenesis pada sel inang, maka penting untuk dilakukan analisis kimia lipopolisakarida.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiarti S. 1997. Pelekatan pada sel HEp-2 dan keragaman serotipe O *Escherichia coli* enteropatogen isolat Indonesia. Berkala Ilmu Kedokteran 29:105-110.
- Christensen BE, Characklis WG. 1990. Physical and chemical properties of biofilm. Di dalam: Characklis WG and Marshall KC, editor. Biofilm. New York: J Wiley.
- Cronan JE, Gelmann EP. 1973. An estimate of the minimum amount of unsaturated fatty acid required for growth of *Escherichia coli*. J Biochem 248:1188-1195.
- Cunniff P, editor. 1999. Official Methodes of Analysis of Asociation of Official Agriculture Chemistry International. Ed ke-16. Maryland: AOAC International.
- Damayanti E. 2001. Karakterisasi biofilm pada *Escherichia coli* enteropatogen [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Garvin JL, Klages AL, Cronan JE. 1980. β -Ketoacyl-acyl carrier protein synthase II of *Escherichia coli* evidence for function in the thermal regulation of fatty acid synthesis. J Biochem 255:3263-3265.
- Guerzoni ME, Lanciotti R, Cocconcelli PS. 2001. Alteration in cellular fatty acid composition as response to salt, acid, oxidative and thermal stresses in *Lactobacillus helveticus*. Microbiology 147:2255-2264.
- Hami Seno DS, Brooker JD. 1998. Extracellular sructure of *B. fibrisolvens* that may mediate attachment. Australian Society for Biochemistry and Molecular Biology Conference:5064.
- Kamaliah M. 2000. Penampakan biofilm pada *Escherichia coli* enteropatogen [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Kompas. 2003. Warga harap waspadai demam berdarah dan diare. [<http://www.kompas.com/kompas-cetak/0301/14/metro/81638/htm>]. [8 Juli 2003].
- Levine MM. 1987. *Escherichia coli* that cause diarrhea: enterotoxigenic, enteropathogenic, enterohemorrhagic, and enteroadherent. J Infect Dis 155:377-389.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2003. Brock Biology of Microorganisms. Ed ke-10. USA: Pearson Education.
- Morein S, Andeson AS, Rilfors L, Lindblom G. 1996. Wild-type *Esherichia coli* cell regulate the membrane lipid composition in window between gel and non-lameillar structure. J Biochem. 271:6801-6809.
- Solano *et al.* 1998. Discrimination of strain of *Salmonella enteriditis* with different levels of virulence by an in vitro glass adherence test. J Clin Microbiol 36:574-674.
- Tsay JT, Oh W, Larson TJ, Jackowski S, and Rock CO. 1992. Isolation and charactrization of the β -ketoacyl-acyl carrier protein synthase III gen (*fabH*)

from *Escherichia coli* K-12. J Biochem
267:6807-6814.

Watnick P, Kolter R. 2000. Biofilm, city of
microbes. J Bacteriol. 182:2675-2679.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Rumus untuk menghitung kadar asam lemak

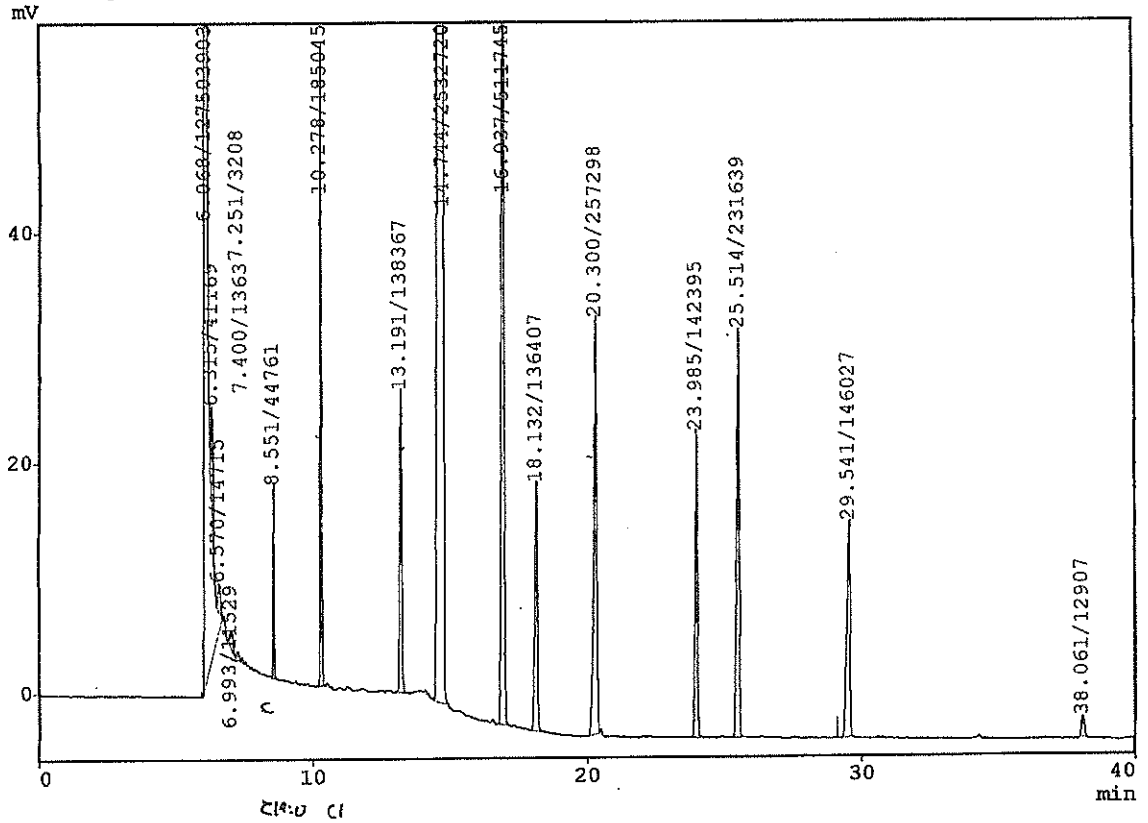
$$\begin{aligned} \text{Asam lemak} &= \frac{\frac{\text{Area sampel}}{\text{Area Standar}} \times \text{konst standar}}{\text{Gram contoh}} \\ &= a \end{aligned}$$

Asam lemak dalam biofilm (mg/100gram)

$$\begin{aligned} &= \frac{a \text{ gram asam lemak/minyak}}{100 \text{ gram lemak/minyak}} \times \frac{\text{persentase gram minyak}}{100 \text{ gram contoh biofilm}} \times \\ &\quad \frac{1000 \text{ mg asam lemak/minyak}}{\text{gram asam lemak}} \\ &= \frac{b \text{ mg asam lemak}}{100 \text{ gram biofilm}} \end{aligned}$$

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=1 DATA=KSH.D01 03/09/03 10:40:42
 Sample : biofilm std as lemak
 ID : BM/VIII/03/143
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : WFID
 Operator : kosasih

*** Chromatogram *** Filename:KSH.C01



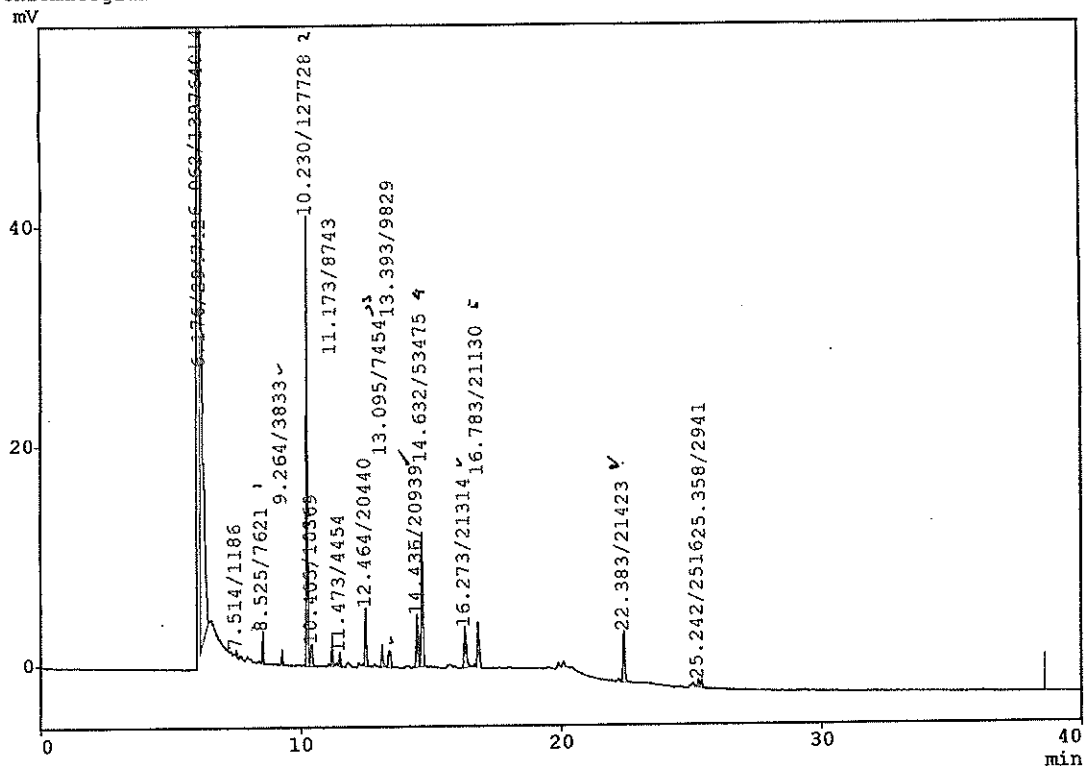
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	6.068	127503903	52991495	S		96.6560	
2	6.315	41169	7765	T		0.0312	
3	6.570	14715	2460	T		0.0112	
4	6.993	11529	1403			0.0087	
5	7.251	3208	635			0.0024	
6	7.400	1363	366			0.0010	
7	8.551	44761	16791			0.0339	
8	10.278	185045	55232			0.1403	
9	13.191	138367	26310			0.1049	
10	14.744	2532720	254399			1.9200	
11	16.937	511745	84051			0.3879	
12	18.132	136407	21580			0.1034	
13	20.300	257298	36428			0.1950	
14	23.985	142395	26761			0.1079	
15	25.514	231639	35612			0.1756	
16	29.541	146027	18738			0.1107	
17	38.061	12907	1742			0.0098	

 131915198 53581767 100.0000

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=2 DATA=KSH.D01 03/09/03 11:26:34
 Sample : biofilm as lemak
 ID : BM/VIII/03/143
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : WFID
 Operator : kosasih

*** Chromatogram *** Filename:KSH.C01



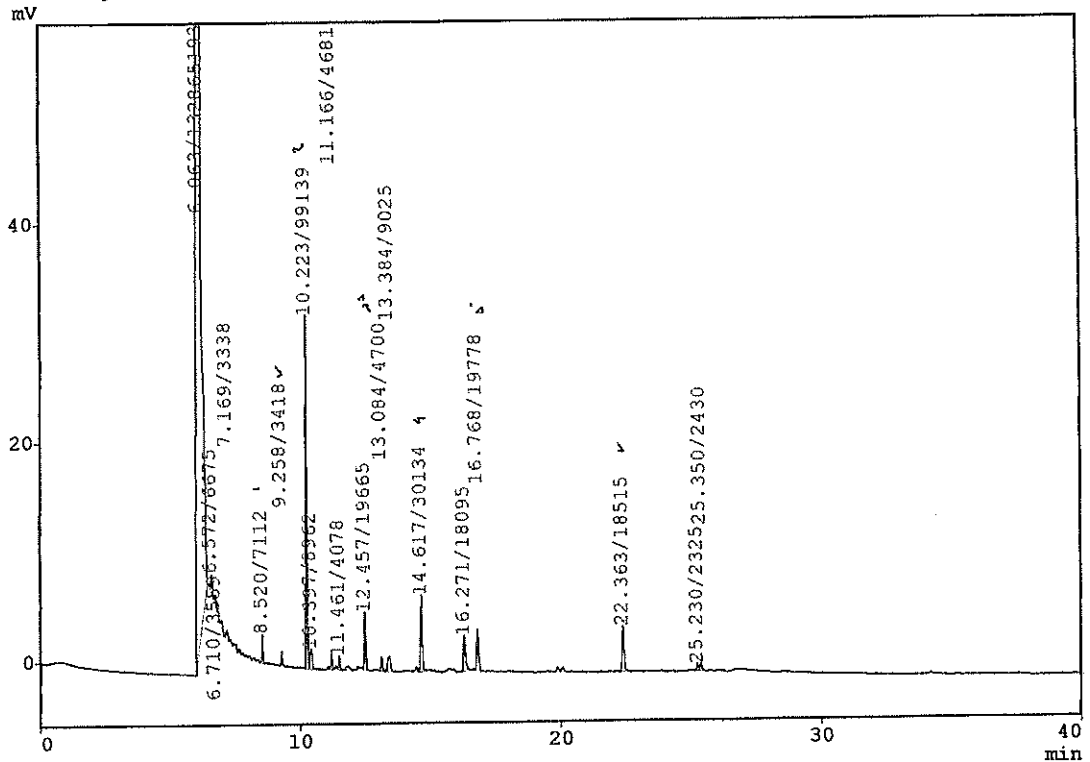
*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	6.062	139764014	58036665			99.5442	
2	6.176	294742	43613	V		0.2099	
3	7.514	1186	554			0.0008	
4	8.525	7621	2910			0.0054	
5	9.264	3833	1383			0.0027	
6	10.230	127728	40986			0.0910	
7	10.405	10369	1949	V		0.0074	
8	11.173	8743	2537			0.0062	
9	11.473	4454	1299			0.0032	
10	12.464	20440	5233			0.0146	
11	13.095	7454	1968			0.0053	
12	13.393	9829	1443			0.0070	
13	14.436	20939	4712			0.0149	
14	14.632	53475	12129			0.0381	
15	16.273	21314	3609			0.0152	
16	16.783	21130	4090			0.0150	
17	22.383	21423	4615			0.0153	
18	25.242	2516	635			0.0018	
19	25.358	2941	665	V		0.0021	

140404149 58170995 100.0000

CLASS-GC10 Ver.=2.01 SYS=1 Ch=1 REPORT.NO=3 DATA=KSH.D01 03/09/03 12:11:58
 Sample : suspensi as lemak
 ID : BM/VIII/03/143
 Dilution Factor: 1
 Type : Unknown
 Detector : WFID
 Operator : kosasih

*** Chromatogram *** Filename:KSH.C01



*** Peak Report ***

PKNO	TIME	AREA	HEIGHT	MK	IDNO	CONC	NAME
1	6.063	132865193	54527841			99.8005	
2	6.572	6675	1616			0.0050	
3	6.710	3559	830			0.0027	
4	7.169	3338	752			0.0025	
5	8.520	7112	2620			0.0053	
6	9.258	3418	1274			0.0026	
7	10.223	99139	32221			0.0745	
8	10.397	8962	1718	V		0.0067	
9	11.166	4681	1329			0.0035	
10	11.461	4078	1205			0.0031	
11	12.457	19665	5245			0.0148	
12	13.084	4700	1215			0.0035	
13	13.384	9025	1313			0.0068	
14	14.617	30134	6876			0.0226	
15	16.271	18095	3185			0.0136	
16	16.768	19778	3763			0.0149	
17	22.363	18515	4077			0.0139	
18	25.230	2325	568			0.0017	
19	25.350	2430	571	V		0.0018	

 133130822 54598218 100.0000