

## **PENGARUH WHEY KEFIR SUSU KAMBING TERHADAP HIDROFOBISITAS BAKTERI *E. coli* O157:H7, *S. typhi* DAN Khamir *C. albicans***

*Effect of whey goat milk kefir on hydrophobicity of E. coli O157:H7, S. typhi bacteria and C. albicans*

Dedi Fardiaz<sup>1</sup> dan Lilik Eka Radiati<sup>2</sup>

<sup>1)</sup> *Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor*

<sup>2)</sup> *Bagian Teknologi Hasil Ternak Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya*

Diterima 7 Februari 2012; diterima pasca revisi 27 Februari 2012  
Layak diterbitkan 1 Maret 2012

### **ABSTRACT**

*The hydrophobicity of bacteria. was determined using BATH (Bacteria adhesion to hydrocarbon) test. All bacteria showed that 0,9 ml n-octane exposure gave a positive response and indicating that E. coli O157:H7 was categorized as moderate hydrophobic bacteria, while S. typhi and C. albicans were catagorized as highly hydrophobic bacteria. Goat Milk Kefir increased hydrophobicity of E. coli O157:H7 by 24.40, however, decreased hydrophobicity of S. typhi by 47.56 and C. albicans by 70.14 percent, respectively. This finding showed that one of the inhibition mechanism may be caused by an interaction of organic acid and peptide compounds with cell membrane, in which hydrophobic sites of component modified the hydrophobicity of the bacteria cell surface. The hydrophobicity modification in bacterial cell wall might result inhibition of adhetion bacteria at cell host.*

**Key words :** *Enteropathogenic bacteria, hidrophobisitas bacteria*

### **PENDAHULUAN**

Whey kefir susu kambing merupakan produk susu fermentasi yang kaya akan senyawa antimikroba diantaranya asam organik, peptida dan eksopolisakarida (Patel *et al.*, 2012). Komponen ini merupakan hasil metabolisme Bakteri Asam Laktat (BAL), dimungkinkan mekanisme antimikroba melalui mekanisme perubahan hidrofobisitas sel mikroba target.

Kemampuan bakteri berkolonisasi dengan sel epitel merupakan tahap awal infeksi (Lee dan Yii, 1996) dan sarana penting dalam hal virulensi suatu bakteri,

karena bakteri yang tidak mempunyai kemampuan untuk melekat pada sel epitel akan keluar melalui proses peristalsis (Cree dan Nobel, 1995). Secara biologis pelekatan bakteri pada sel epitel diperlukan untuk melawan mekanisme peristalsis usus, yang ditimbulkan karena penolakan bakteri oleh epitel (Rosenberg and Sar, 1990).

Pelekatan bakteri pada sel inang terjadi karena adanya interaksi hidrofobik dari komponen permukaan bakteri dengan sel inang. Salah satu adesin protein fimbrie yang bersifat hidrofobik, disebabkan oleh jumlah asam amino hidrofobik penyusun protein fimbrie dan dipengaruhi oleh

struktur tersier protein. Sifat hidrofobik fimbriae ini meningkatkan afinitas bakteri pada reseptor, sehingga terjadi pelekatan bakteri pada reseptor permukaan sel epitel (Rosenberg and Sar, 1990). Ini berarti sisi hidrofobik bakteri mempunyai peranan membentuk interaksi hidrofobik dengan sel inang, sehingga kemungkinan bakteri tetap tinggal dipermukaan usus dan berkembang biak atau berpenetrasi ke dalam jaringan.

Perubahan hidrofobisitas pada bakteri dapat terjadi selama proses morfogenesis dan adanya senyawa yang bersifat antimikroba (Rosenberg and Sar, 1990). Pada proses morfogenesis, sel bakteri *E. coli* muda mempunyai sifat hidrofobik yang lemah yaitu mempunyai hidrofobisitas 5 persen, penambahan umur bakteri meningkatkan sifat hidrofobik hingga mencapai 60 persen dan sifat hidrofobik ini konstan setelah umur 90 menit.

Antimikroba dapat menurunkan atau meningkatkan hidrofobisitas bakteri tergantung dari spesies bakteri dan senyawa antimikroba. Dari fenomena ini Rosenberg and Sar (1990) mempostulasikan perubahan hidrofobisitas bakteri sebagai berikut: (1) Penurunan hidrofobisitas dapat terjadi karena reseptor antimikroba pada bakteri, yang merupakan sisi peptida hidrofobik yang berinteraksi dengan antimikroba yang berikatan secara non kovalen. Penurunan hidrofobisitas dapat disebabkan oleh bakteri kehilangan komponen ekstraseluler yang bersifat amfipatik. (2) Peningkatan hidrofobisitas terjadi karena perubahan struktur membran terluar sel adesin yang membentuk fibril. Peningkatan hidrofobisitas juga disebabkan oleh adanya antimikroba yang dapat berpenetrasi ke dalam sel. Adanya protein enzim, seperti lisozim dapat menyebabkan hidrolisis pada polisakarida dinding sel sehingga lipoprotein kontak dengan lingkungan. Terbukanya lipoprotein ini dapat meningkatkan hidrofobisitas bakteri.

Berdasarkan acuan dan fenomena di atas perubahan hidrofobisitas yang meningkat atau menurun menunjukkan perubahan pada komponen luar bakteri dan mengakibatkan perubahan sisi pengikatan bakteri pada epitel, sehingga mengurangi interaksi bakteri dengan sel epitel sehingga mengakibatkan virulensi bakteri tersebut melemah.

Uji hidrofobisitas bakteri dapat dilakukan dengan berbagai cara (Lee dan Yui, 1996) diantaranya: menggunakan presipitasi "permukaan" sel dengan garam, membran nitroselulosa, kromatografi kolom dan interaksi bakteri terhadap hidrokarbon yang menggunakan n-heksan atau n-oktana. Penentuan hidrofobisitas dengan menggunakan garam amonium sulfat menunjukkan suatu hasil yang lemah, karena adanya sifat bakteri yang menggerombol walaupun tanpa berinteraksi dengan amonium sulfat. Tidak semua bakteri memberikan respon positif terhadap membran nitroselulosa dan penggunaan n-heksan memberi respon negatif, tetapi respon positif terhadap n-oktana. Menurut Jones *et al* (1991) hasil analisis hidrofobisitas dengan BATH yang menggunakan n-oktana dan kromatografi memberikan interpretasi yang sama.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh whey protein kefir susu kambing terhadap perubahan hidrofobisitas bakteri *E. coli* O157:H7, *S. typhi* dan *V. cholerae*.

## MATERI DAN METODE

Bahan percobaan yang digunakan adalah whey kefir susu kambing yang diperoleh dari industri rumah tangga dari produsen kefir susu kambing di Ampel Gading Malang dengan berbagai umur simpan. Bakteri yang digunakan adalah: *S. typhi* ATCC 0029, *C. albicans* ATCC 2143 (BALITVET, Bogor), dan *E. coli* O157:H7 ATCC 43889 (Lab. Mikrobiologi TPG, IPB, Bogor). Kultur bakteri ditumbuhkan pada NB, khusus untuk media

pertumbuhan *C. albicans* ditambah 0,5 persen NaCl. Kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam.

Sebanyak 4 L susu kambing disimpan pada suhu refrigerator dengan suhu penyimpanan berkisar 4°C, lama penyimpanan L0 (tidak disimpan), L1 (3 hari), L2 (6 hari), L3 (9 hari) dan L4 (12 hari). Whey kefir susu kambing diperoleh dengan cara menaikkan suhu kefir pada suhu 37°C, disentrifugasi 5000 g, 15 menit, supernatan (Whey Kefir), selanjutnya disaring dengan milipore (*Amicon-15 cutoff* 30 kDa) dan sentrifugasi pada 4000 g selama 25 menit, filtrat diliofilisasi dan disimpan beku, sampai digunakan lebih lanjut.

### Uji Hidrofobisitas Bakteri

Penentuan hidrofobisitas bakteri dilakukan dengan modifikasi BATH pada hidrokarbon n-oktana dengan cara Jones *et al.* (1991) dan Lee dan Yii (1996) sebagai berikut: sebanyak 4,8 mL suspensi bakteri yang mengandung 10<sup>6</sup> cfu/mL disentrifus pada 1900 g selama 15 menit. Supernatan kultur dibuang dan pelet bakteri ditambah 4,8 ml NB yang mengandung whey kefir. Didalam 4,8 mL NB yang ditambahkan pada pelet bakteri *E. coli* O157:H7, *S. typhi* dan *C. albicans* masing-masing berturut-turut mengandung protein 0,1 mg/mL.

Kontrol hidrofobisitas digunakan penambahan 1,07 mL bufer fosfat dan 3,73 mL media NB pada pelet bakteri, sehingga volume akhir menjadi 4,8 mL. Selanjutnya suspensi bakteri tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kultur bakteri dipisahkan dengan cara sentrifus pada 1900 x g selama 15 menit. Pelet yang terbentuk dicuci satu kali dengan PBS steril, diresuspensikan dalam PBS menjadi 4,8 mL.

Setiap 4,8 mL suspensi bakteri 10<sup>6</sup> cfu/mL ditambahkan pada seri volume hidrokarbon 0,3; 0,6; 0,9; 1,2 dan 1,5 mL n-oktana dalam tabung yang tahan asam. Kemudian tabung divorteks dengan

kecepatan konstan selama satu menit, dan diekuilibrasikan pada suhu kamar selama 15 menit, sehingga terjadi pemisahan. Fase air diambil secara perlahan-lahan menggunakan pipet pasteur, kemudian absorbansi diukur pada  $\lambda$  600 nm. Hidrofobisitas ditentukan berdasarkan persentase OD (*optical density*) pada fase air. Persen hidrofobisitas =  $100 - (A \times 100/A_0)$ , dimana A adalah OD dari suspensi bakteri pada fase air setelah kontak dengan n-oktana dan A<sub>0</sub> merupakan OD suspensi tanpa penambahan n-oktana yang mempunyai nilai hidrofobisitas setara dengan 0 persen. Keseimbangan volume n-oktana dengan suspensi bakteri ditentukan dengan membuat grafik dengan variabel volume hidrokarbon dan persen hidrofobisitas. Nilai hidrofobisitas ditentukan berdasarkan pengamatan dengan tiga ulangan.

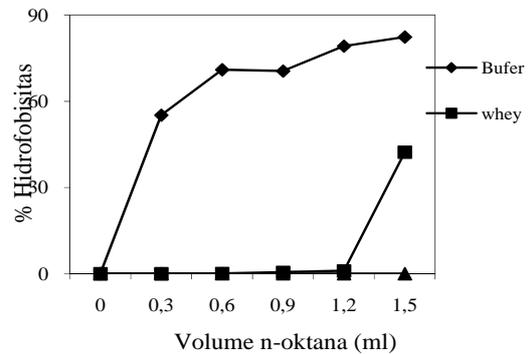
Kriteria hidrofobisitas dari bakteri ditentukan berdasarkan kriteria Santos *et al.* (1990) yang dapat dilihat pada Tabel 1. Nilai hidrofobisitas pada kontrol menunjukkan sifat hidrofobisitas bakteri secara alami. Nilai perubahan hidrofobisitas diperoleh dari selisih pengurangan perlakuan kontrol dengan perlakuan, jika perlakuan mempunyai hidrofobisitas lebih besar daripada kontrol maka perlakuan dapat meningkatkan hidrofobisitas (+) dan nilai perubahan hidrofobisitas lebih kecil berarti perlakuan menurunkan hidrofobisitas (-).

Tabel 1. Kriteria Hidrofobisitas Bakteri

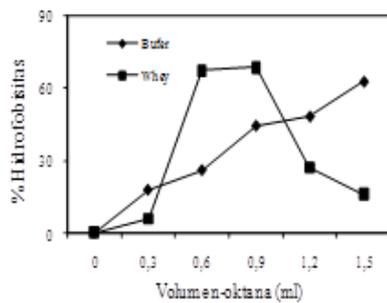
Jenis uji	Nilai	Kriteria hidrofobisitas
Presipitasi garam Salt Agregation Test (SAT)	0,0-1,0 mol/l	Kuat
	1,0-2,0 mol/l	Moderat
	2,0-4,0 mol/l	Lemah
	>4,0 mol/l	Negatif
Nitrocelulosa Filter (NCF)	>75%	Kuat
	50-75%	Moderat
	<50%	Negatif
BATH	>50%	Kuat
	20-50%	Moderat
	<20%	Negatif

Santos *et al.*, (1990)  
**HASIL DAN PEMBAHASAN**

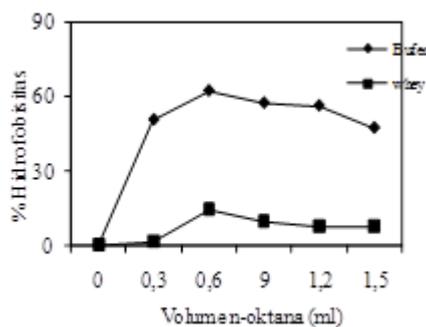
Ekspresi afinitas bakteri pada hidrokarbon n-oktana dapat dilihat pada Gambar 2-4. Semua bakteri uji memberikan respon positif terhadap n-oktana. Analisis hidrofobisitas secara BATH menurut kriteria Santos *et al.* (1990) (Tabel 1), menunjukkan bahwa nilai hidrofobisitas bakteri lebih besar dari 50 persen dapat digolongkan bakteri hidrofobik kuat, nilai hidrofobisitas 20-50 persen digolongkan hidrofobik moderat, dan nilai hidrofobisitas kurang dari 20 persen digolongkan hidrobobik lemah.



Gambar 4. Pengaruh whey kefir terhadap hidrofobisitas *C. albicans* pada hidrokarbon n-oktana.



Gambar 1. Pengaruh Whey Kefir Susu Kambing terhadap Hidrofobisitas *E. coli* O157:H7 pada Hidrokarbon n-oktana



Gambar 2. Pengaruh Whey Kefir susu kambing terhadap hidrofobisitas *S. typhi* pada Hidrokarbon n-oktana

Pengaruh whey kefir terhadap hidrofobisitas secara kuantitatif ditentukan pada penambahan 0.9 ml n-oktana dapat dilihat pada Tabel 2. Pada perlakuan kontrol yaitu hasil pemisahan bakteri dengan bufer menunjukkan bahwa *E. coli* O157:H7 mempunyai afinitas terhadap hidrokarbon sebesar 44,30 persen, *S. typhi* sebesar 57,17 persen dan *C. albicans* sebesar 70,52 persen. Ini menggambarkan bahwa *E. coli* O157:H7 tergolong bakteri hidrofobik moderat, sesuai dengan pernyataan Lachica (1990), sedangkan *S. typhi* dan *C. albicans* dapat digolongkan pada mikroba yang bersifat hidrofobik kuat. Whey kefir dapat meningkatkan hidrofobisitas *E. coli* O157:H7 sebesar 14,40, sebaliknya ekstrak tersebut dapat menurunkan hidrofobisitas *S. typhi* sebesar 49,56 persen dan *C. albicans* sebesar 60,14 persen.

Tabel 2. Pengaruh Whey Kefir Susu Kambing terhadap Hidrofobisitas Bakteri pada Penambahan 0.9 mL n-oktana<sup>8</sup>

Bakteri	Anti mikroba	% Hidrofobisitas	% $\Delta$ hidrofobisitas relatif terhadap buffer	Konsentrasi antimikroba
<i>E. coli</i> O157: H7	Bufet	44,30 $\pm$ 1,92	-	-
	Whey	58,70 $\pm$ 3,92	(+) 14,40	0,1 mg/ml
<i>S. typhi</i>	Bufet	57,17 $\pm$ 6,42	-	-
	Whey	8,61 $\pm$ 0,53	(-) 49,56	0,1 mg/ml
<i>C. albicans</i>	Bufet	70,52 $\pm$ 3,02	-	-
	Whey	10,38 $\pm$ 0,75	(-) 60,14	0,1 mg/ml

Sifat hidrofobisitas bakteri berhubungan dengan komponen dinding sel seperti fosfolipid, lipopolisakarida dan komponen luar sel seperti fimbriae dan kapsul. Komponen ini mempunyai fungsi penempelan pada sel inang dengan membentuk interaksi hidrofobik (Finlay dan Falkow, 1997). Menurut Nikaido (1996) fosfolipid pada *E. coli* banyak mengandung fosfatidiletanolamin yang mengandung asam amino polar dan LPS dengan komponen polisakarida yang relatif lebih tinggi, sehingga *E. coli* mempunyai sifat hidrofobik moderat. Sifat hidrofobik pada *C. albicans* diekspresikan oleh adanya fimbriae (Lachica, 1990), yang dimediasi oleh adanya protein 20,5 kDalton dan protein ini mengandung asam amino lisin dan asam amino non polar (leusin dan isoleusin). Hidrofobisitas *S. typhi* berhubungan dengan faktor adhesin yang disintesis melalui sistem "Novo", karena penghambatan pada sintesis protein tersebut mengakibatkan penurunan hidrofobisitas *S. typhi* (Rosenberg dan Sar, 1990).

Keragaman komponen penyusun dinding sel, komponen terluar membran dan komponen yang memberikan fungsi terhadap sifat hidrofobik bakteri menyebabkan setiap spesies dan strain mengekspresikan hidrofobisitas yang berbeda.

Perlakuan 10 mg/ml whey pada *E. coli* O157:H7, *S. typhi* dan *C. albicans* mempunyai kecenderungan yang berbeda yaitu meningkatkan hidrofobisitas *E. coli* O157:H7 dan menurunkan hidrofobisitas *S. typhi* dan *C. albicans* (Tabel 2). Jones *et al.* (1991) juga melaporkan hasil penelitiannya yaitu penambahan 2,0 persen taurolidin meningkatkan hidrofobisitas 5,13 persen pada *E. coli* dan 15,65 persen pada *Staphylococcus saprophyticus*, sedangkan 0,075 persen klorheksidin asetat menurunkan hidrofobisitas 24,69 pada *E. coli* dan meningkatkan 36,72 persen pada *S. saprophyticus*. Peningkatan dan penurunan hidrofobisitas pada bakteri yang disebabkan adanya senyawa peptida whey kefir dipengaruhi oleh spesies bakteri.

Mengacu pada postulat Rosenberg dan Sar (1990) maka perubahan hidrofobisitas pada bakteri yang diakibatkan adanya komponen bioaktif yang terdapat dalam whey kefir yaitu senyawa peptida dapat dijelaskan sebagai berikut: (1) Peningkatan hidrofobisitas pada *E. coli* O157:H7, kemungkinan disebabkan oleh terekstraksinya komponen terluar sel yang bersifat hidrofilik, sehingga yang menonjol adalah LPS yang meningkatkan hidrofobisitas bakteri. Pernyataan ini sama seperti yang dikemukakan oleh Sunairi *et al.* (1997) yaitu perubahan kapsul bakteri yang

simetris menjadi tidak simetris karena adanya perlakuan antimikroba menjadikan bakteri lebih hidrofobik. Kemungkinan lain karena senyawa peptida dalam whey kefir bersifat surfaktan dan berinteraksi dengan senyawa lipoprotein dan memberikan efek peningkatan hidrofobik. (2) Penurunan hidrofobisitas pada *C. albicans* kemungkinan disebabkan oleh senyawa peptida berinteraksi dengan fimbriae dan mengakibatkan penggumpalan protein subunit 20,5 kDalton, sehingga protein ini kehilangan struktur hidrofobiknya dan mengakibatkan hidrofobisitas bakteri menurun. Penurunan hidrofobisitas pada *S. typhi* karena senyawa fenolik berinteraksi dengan protein yang disintesis pada sistem "Novo". Telah diketahui bahwa protein ini berperan meningkatkan hidrofobisitas *S. typhi*, dengan adanya senyawa peptida kemungkinan mengakibatkan perubahan struktur tersier protein atau senyawa peptida menyisip pada sisi hidrofobik protein, sehingga mengakibatkan penurunan hidrofobisitas sel bakteri.

Perubahan hidrofobisitas pada (Tabel 2). Penggunaan 10 mg/ml whey tersebut setara dengan dengan kandungan peptida 0,134 mg/ml. Ini menunjukkan bahwa pada perlakuan ini ada senyawa lain yang berpotensi mempengaruhi hidrofobisitas bakteri yang kemungkinan adalah karbohidrat. Komponen protein dan karbohidrat dapat menutupi sisi hidrofilik dari bakteri, walaupun protein telah terdenaturasi dan karbohidrat telah mengalami gelasi. Interaksi ini seperti yang diuraikan oleh Duncan-Hewitt (1990) yaitu interaksi terjadi seperti halnya penambahan satu persen SDS dapat meningkatkan hidrofobisitas pada *B. cereus*, yang dikarena SDS menutupi sisi hidrofobisitas. Peningkatan hidrofobisitas bakteri tersebut juga dapat disebabkan karena penambahan enzim lisozim yang dapat menghilangkan peptidoglikan.

Perubahan hidrofobisitas suatu bakteri *E. coli* O157:H7, *S. typhi* dan *V. cholerae* O1 menunjukkan perubahan struktur permukaan, yang berarti terjadi perubahan pada komponen luar bakteri. Pada komponen permukaan bakteri juga terdapat protein yang mengkoordinasi produksi protein ekstraseluler termasuk toksin, maka adanya perubahan hidrofobisitas pada bakteri juga menghambat sintesis faktor virulensi yang lain. Selain itu perubahan hidrofobisitas yang meningkat maupun yang menurun kemungkinan dapat menghambat faktor virulensi khususnya terhadap pelekatan bakteri pada sel inang. Menurut Jones *et al.* (1991), antibiotik klorheksidin menurunkan hidrofobisitas *E. coli*, sedangkan taurolidin meningkatkan hidrofobisitas bakteri tersebut. Perubahan hidrofobisitas yang meningkat maupun yang menurun dapat menurunkan pelekatan bakteri pada sel epitel secara *in vitro*.

## KESIMPULAN

Perubahan hidrofobisitas bakteri *E. coli* O157:H7, *S. typhi* dan *C. albicans* menunjukkan adanya perubahan struktur permukaan sel bakteri. Perubahan struktur permukaan sel bakteri itu, kemungkinan mengakibatkan perubahan sistem enzim yang mengkoordinir produksi protein ekstraseluler. Keseluruhan peristiwa ini merupakan salah satu mekanisme penghambatan pertumbuhan dan virulensi bakteri.

## DAFTAR PUSTAKA

- Cree, R.G.A. and W.C. Noble. 1995. In vitro indices of tissue adherence in *Staphylococcus intermedius*. J. Letters In Appl. Microbiol. 20: 168-170.
- Duncan-Hewitt, W.C. 1990. Natural of the hydrophobic effect. In Doyle R.J. and M. Rosenberg. Eds. Microbial Cell Surface

- Hydrophobicity. American Society for Microbiology. Washington. D.C.
- Finlay, B.B. and S. Falkow. 1997. Common themes in microbial pathogenicity revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. P 136-169.
- Jones, D., S. Gorman, D.F. McCafferty and A.D. Woolfson. 1991. The effects of three non-antibiotic, antimicrobial agents on the surface hydrophobicity of certain micro-organism evaluated by different methods. *J. Appl. Bacteriol.* 71: 218-227.
- Lachica, R.V. 1990. Significance of hydrophobicity in the adhesiveness of pathogenic Gram negative bacteria. In Doyle R.J. and M. Rosenberg. Eds. *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. American Society for Microbiology. Washington. D.C.
- Lee, K.K. and K.C. Yii. 1996. A Comparison of three methods for assaying hydrophobicity of pathogenic vibrios. *J. Letters In Appl. Microbiol.* 13: 343-346.
- Nikaido, H. 1996. Outer membrane. In Neidhart, F.C. *Escherichia coli* and *Salmonella* Cellular and Molecularr Biology. ASM Press. Washington D. C.
- Patel, S., A. Majumder and A. Goyal. 2012. Potensial of exopolysaccharides from Lactic Acid Bacteria. *J. Microbial.* 52 (1): 3-12.
- Rosenberg, E. and R.J. Doyle. 1990. Microbial cell surface hydrophobicity: History, measurement and significance. In Doyle R.J. and M. Rosenberg. Eds. *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. American Society for Microbiology. Washington. D.C.
- Rosenberg, E. and N. Sar. 1990. Changes in bacterial surface hydrophobicity during morphogenesis and differentiation. In Doyle, R.J. and M Rosenberg. Eds . *Microbial Cell Surface Hydrophobicity*. American Society for Microbiology. Washington. D.C.
- Santos, Y., I. Bandin, T.P. Nicto, D.W. Bruno, A.E. Ellis and A.T. Taranzo. 1990. Proposed criteria of hydrophobicity. In Lee, K.K. and K.C. Yii. 1996. A Comparison of three methods for assaying hydrophobicity of pathogenic vibrios. *J. Letters In Appl. Microbiol.* 13: 343-346.
- Sunairi, M. N. Iwabuchi, Y. Yoshizawa, H. Murooka, H. Morisaki and M. Nakajima. 1997. Cell-surface hydrophobicity and scum formation of *Rhodococcus rhodochromus* strain with different colonial morphologies. *J. Appl. Microbiol.* 82: 204-210.