

DETEKSI KAPSUL DAN SLIME PADA BAKTERI PATOGEN YANG DIISOLASI DARI BENIH LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*)

Muhyiatul Fadilah¹, Heffi Alberida¹, Irdawati¹

¹Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang
Jl. Prof Dr. Hamka Padang. Email: caesura_ii@yahoo.com

ABSTRACT

Pathogenic bacterial ability to cause disease is called pathogenicity. Bacteria pathogenicity level stated as virulency. Bacterial virulency is determined by virulency agent, include certain structure of the cell and secrete produced into substrate. Capsul and slime are specific cell structure which act as virulency agent. Capsul and slime presence is able to prevent phagocytosis by host antibody. This study aimed to confirm presence of capsul and slime produced by pathogenic bacterial isolated from *Clarias gariepinus*. These pathogens are *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Serratia* sp. This is a descriptive study. Observation has been done to detect intense layer around the cells by using negative staining method. Result of study has informed that *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Serratia* sp., examined do not form capsul and slime.

Key words: Capsul and slime, bacterial pathogen, *Clarias gariepinus*.

PENDAHULUAN

Patogenisitas tiap bakteri dan antar strain bakteri berbeda, (Burrows, 1985:256) dan ditentukan oleh virulensinya. Penyebab virulensi suatu mikroorganisme juga tidak sama, ada yang melalui sekresi senyawa tertentu ke dalam substratnya seperti toksin dan enzim ekstraseluler, ataupun memiliki struktur sel khusus seperti pili, kapsul, slime, flagel (Pelczar and Chan, 1988:561).

Toksin bisa menyebabkan penyakit walaupun mikroorganisme penghasilnya sudah tidak ada. Faktor virulensi berikutnya adalah enzim ekstra seluler, seperti leukosidin, hemolisin, kolagenase, koagulase, hialuronidase dan protease. Toksin yang dihasilkan mikroorganisme dikelompokkan atas dua kategori, yaitu eksotoksin dan endotoksin. Eksotoksin disekresikan ke lingkungan atau medium tumbuh, tersusun atas protein bertoksitas tinggi (Burrows, 1985:26), disintesis oleh patogen spesifik dan

dikode oleh plasmid atau gen eksotoksin, dan tidak tahan panas (Pelczar and Chan, 1988:563). Salah satu contoh eksotoksin dihasilkan oleh *Clostridium tetani*, yang menyebabkan kontraksi otot yang hebat (kejang-kejang), dikenal dengan tetanus (Burrows, 1985:328). Endotoksin terdapat sebagai komponen struktural pada dinding sel (Burrows, 1985, hal:328), hanya lepas bila sel tersebut hancur, tahan terhadap panas dan bersifat toksin pada suhu tinggi (Pelczar and Chan, 1988:63).

Kapsul dan Slime

Pada sebagian besar bakteri, terutama yang hidup di lingkungan alami, dikelilingi oleh suatu lapisan lender (gelatinous) yang disebut kapsul dan slime. Sebagian besar bakteri mensekresikan suatu lapisan berlendir yang mengakumulasi mengelilingi permukaan luar sel dan menyelubungi dinding sel (Beishir, 1991:59). Sebagian ahli berpendapat

lapisan lendir merupakan modifikasi dinding sel terluar yang berasal dari pengembangan dan gelatinisasi konstituennya. Sebagian lagi berpendapat bahwa lapisan lendir adalah produk sekretori yang mempunyai komposisi kimia berbeda dengan dinding sel. Clifton (1958:59-60) menyatakan bahwa lapisan lendir ini disusun oleh karbohidrat yang disimpan disekeliling dinding sel. Bila lapisan ini cukup tebal dan mempunyai bentuk yang jelas, disebut dengan kapsul.

Adanya kapsul yang tebal pada berbagai bakteri patogen merupakan indikasi umum tingginya virulensi mikroorganisme (Pelczar and Chan, 1977:67). Berbagai penyakit terbukti disebabkan oleh bakteri yang mempunyai kapsul seperti *Bacillus anthracis* (penyebab antraks), *Clostridium pefringens* (penyebab gang-grene) dan *Streptococcus pneumonia* (penyebab pneumonia). Selain itu, adanya kapsul meningkatkan virulensi dan infektifitas bakteri patogen (Beishir 1999:234). Hal ini disebabkan karena kapsul mampu melindungi bakteri patogen dari fagositosis oleh makrofag dan leukosit polimorfonuklear hewan tingkat tinggi (Neidhart *et al*, 1990:26).

Istilah slime diberikan untuk lapisan lendir yang menyelubungi satu koloni bakteri. Slime dibedakan dari kapsul berdasarkan ketebalan dan viskositasnya. Kapsul memiliki struktur yang lebih lebar dan definit serta mudah diamati (Beishir, 1991:234). Slime bersifat lebih mudah larut dan kurang kental dibanding kapsul. Kapsul adalah bagian dari sel, sedangkan slime adalah hasil sekresi. Klieneberfo-Novel (1948) dalam Salle (1961:74) menjelaskan bahwa kapsul memiliki bentuk yang jelas, baik densitas dan kerangkanya, sementara slime berbentuk amorf dan dapat dilepaskan sehingga menjadi struktur yang bentuknya bermacam-macam, sering terdapat disekitar sel bakteri dan berkurang densitasnya bila jaraknya semakin jauh dari sel. Gladwin dan tarttler (1995:28) menambahkan bahwa kapsul merupakan lapisan lendir yang mengelilingi satu sel tunggal bakteri sedangkan slime adalah lapisan lendir yang mengelilingi satu koloni kecil (mikrokoloni) bakteri.

Kapsul membantu sel berkompetisi dalam lingkungan alami dan memudahkan sel melekat ke suatu permukaan substrat. Kapsul merupakan pelindung bakteri yang mencegah terjadinya fagositosis oleh makrofag dan leukosit polimorfonuklear hewan tingkat tinggi (Neidhart *et al*, 1990:26). Beishir (1991:234) menambahkan bahwa fungsi proteksi kapsul ini terjadi melalui peran kapsul sebagai barrier osmotic antara sel dengan lingkungan. Virulensi berbagai bakteri berkapsul berkaitan erat dengan adanya kapsul itu sendiri, Antibodi terhadap kapsul tersebut meningkatkan fagositosis melalui kerusakan intra sel secara perlahan. Bila kapsul suatu bakteri hilang, maka sifat virulensinya ikut hilang. Neidhart *et al* (1990:27) menambahkan kapsul berperan sebagai determinan utama kemampuan sel bakteri untuk mengkolonisasi niche tertentu (misal : *Streptococcus mutans* pada gigi).

Komposisi Kimia Kapsul dan Slime

Kapsul dan slime umumnya terdiri senyawa polisakarida. Polisakarida ini bervariasi dalam hal komposisi dan kompleksitasnya. Polisakarida yang paling sederhana adalah monopolisakarida -polimer dari monosakarida- termasuk selulosa, levans, dekstrans, dan glukans. Sebagian besar polisakarida ini bersifat kompleks, biasanya memiliki asam uronat sebagai konstituen tambahan. Konstituen monomer dari polisakarida ini mencakup heksosa netral, khususnya D-glukosa, D-galaktosa, dan D-mannosa; methyl pentose seperti L-fukosa & L-ramnosa; polyol seperti ribitol dan gliserol; gula amino dan juga asam uronat. Fosfor juga sering ditemukan, khususnya pada polisakarida yang memiliki polyols san asam teikoat. Kapsul dari beberapa jenis *Bacillus* (misalnya *B. anthracis* & *B. subtilis*) terdiri dari senyawa polipeptida seperti asam glutamin (Schlegel, 1994:62).

Pembentukan Kapsul dan Slime

Kapsul mempunyai cara perakitan yang sama dengan lipopolisakarida (LPS). Kapsul dan LPS, merupakan polimer hidrofilik besar yang harus disekresikan/diekspor keluar membran sel. Solusi atas khusus ini adalah membangun suatu sub unit pada lipid

carier, mentranslokasikan polimer hidrofilik tersebut melintasi membran dan merakitnya pada permukaan luar. Dalam hal ini, undecaprenyl pospat berfungsi sebagai carier untuk transport polisakarida kapsular. Pada permukaan bagian dalam sel, unit tiga glikosa dibentuk pada carier dengan mentransfer dari prekursor glukosa dipospat nukleosid. Pada permukaan luar, trisakarida diikat bersama oleh adisi utama, dengan mentransfer polisakarida yang sedang terbentuk dari carier ke kompleks carier trisakarida didepannya. Polisakarida kapsular pada *Escherichia coli* mengandung molekul pospolipid yang salah satu asam lemaknya disubstitusi oleh polisakarida. Pada proses ini, strain kapsular bisa bergabung atau disisipkan ke membran luar, sehingga menjadi terpaut erat. Bagaimana proses ini terjadi pada bakteri lain belum diketahui (Neidhart *et al*, 1990:128).

Salah satu gugus polisakarida kapsular penting dekstrin & levans dipasangkan dengan bantuan enzim ekstraseluler. Proses ini berlangsung tanpa pengeluaran energi ATP, energi untuk transglikolasi disediakan oleh prekursor molekul, biasanya disakarida. Energi mutlak dibutuhkan dalam transportasi enzim keluar sel (Neidhart *et al*, 1990:192). Pembentukan bahan kapsular terjadi terus menerus dan produk lengkapnya sering dilepaskan ke dalam medium (Neidhart *et al* 1990:192). Ketebalan kapsul tidak tetap tapi bervariasi tergantung temperature dan medium pertumbuhan alami. Secara umum, lapisan lendir dapat dihasilkan lebih banyak pada medium yang mengandung sumber karbon dalam jumlah besar. Schlegel (1994:62) menambahkan bahwa pembentukan lendir yang sangat men-colok terjadi pada bakteri yang tumbuh dalam medium yang mengandung banyak sakarosa.

Dengan beberapa pengecualian, species *Bacillus* yang menghasilkan kapsul poly-D-glutamat, eksopolimer bakteri adalah polisakarida dan termasuk selulosa, asam kolaminat (suatu polimer N-asetil muramat) dan piliuranida. Variasi biokimia dapat diamati pada *Pneumococcus*, tiap-tipe serotype menghasilkan polisakarida yang jelas (Neidhart *et al*, 1990: 128-129). Pada lele dumbo (*Clarias gariepinus*) telah berhasil diisolasi

dan diketahui ada enam bakteri patogen yaitu *Alcali-genes* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Serratia* sp. (Sari, 2002:45). Keenam bakteri ini terbukti memiliki patogenisitas sangat virulen dan virulen (Susilawati, 2003:24). Nofitri (2003:18) telah membuktikan bahwa keenam bakteri ini menghasilkan hemolisin.

Melihat patogenisitasnya yang tinggi, ada kemungkinan bakteri patogen yang diisolasi dari benih lele dumbo memiliki faktor virulensi yang lain selain hemolisin. Penelitian ini meliputi pemeriksaan terhadap keberadaan salah satu faktor virulensi yang menyebabkan tingkat patogenisitas bakteri-bakteri patogen. Penelitian ini diharapkan dapat dapat memberikan informasi tentang faktor virulensi yang dipengaruhi oleh produksi kapsul dan slime sehingga dapat dihambat dengan menggunakan senyawa kimia tertentu.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan langkah kerja berikut:

Penyiapan alat dan bahan

Alat yang dipakai adalah mikroskop, neraca analisis, incubator, autoclave, oven, kompor listrik, tabung reaksi, erlemeyer, gelas ukur, beaker glass, jarum inokulasi, kaca objek, pipet tetes, spatula, lampu spiritus, dan perlengkapan pewarnaan.

Bahan yang dipakai adalah biakan *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Serratia* sp., nutrient agar, nutrient broth, agudes, larutan NaCl 0,9 %, dan reagen pewarnaan negatif (nigrosin). Medium yang digunakan adalah nutrient agar (NA) dalam bentuk agar miring dan agar lempeng. Bakteri dibiakan dalam agar lempeng dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Penginokulasian bakteri uji dilakukan dengan masing-masing bakteri diinokulasi ke medium agar miring dengan cara mengambil satu ose biakan dan digoreskan ke dalam agar miring lalu diinkubasi selama 24 jam. Teknik pewarnaan yang dipakai adalah metode pewarnaan negatif menggunakan larutan nigrosin (Boyd and hoerl, 1981: 46-47).

Pengamatan

Preparat diamati dengan mikroskop perbesaran 1000X menggunakan minyak imersi. Kapsul dan slime terlihat sebagai lapisan terang (transparan) melingkari sel bakteridibanding dengan latarnya yang berwarna gelap.

Prosedur selanjutnya dilakukan jika prosedur pewarnaan menunjukkan hasil positif bahwa pada bakteri yang diuji terdapat kapsul dan slime. Uji lanjut bertujuan untuk mendeskripsikan jumlah kapsul dan slime yang dihasilkan. Untuk mengetahuinya, dilakukan pemisahan kapsul dan slime dari medium cair (Clement *et al*, 1990:418-420). Pemisahan kapsul dan slime dari medium cair dilakukan dengan langkah (1) pembuatan medium Broth; (2) pembuatan prekultur; (3) Penginokulasian; (4) Sentrifugasi; (5) Presipitasi dengan pelarut organik; dan (6) Penimbangan presipitat menggunakan neraca analisis (Clement *et al*, 1990:418-420).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan terhadap kapsul dan slime pada bakteri patogen yang diisolasi dari benih lele dumbo menginformasikan bahwa *Alcaligenes sp.*, *Bacillus sp.*, *Micrococcus sp.*, *Proteus sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Serratia sp.* tidak teramati memiliki kapsul dan slime.

Boyd and Hoerl (1981:46) menyatakan bahwa kemampuan suatu bakteri menghasilkan kapsul dan slime ditentukan oleh faktor genetik dan lingkungan. Bakteri patogen yang diamati merupakan hasil isolasi Sari pada tahun 2000 dan ditumbuhkan pada kondisi laboratorium dengan nutrisi yang lengkap serta tidak ada gangguan terhadap pertumbuhannya. Dalam kondisi seperti itu, bakteri yang pada lingkungan alaminya menghasilkan kapsul dan slime akan tetap tumbuh tetapi tanpa menghasilkan kapsul dan slime (Neidhart *et al*, 1990:46). Gladwin and Tartlerr (1995, hal:30), menjelaskan bahwa pada dasarnya bakteri yang hidup bebas di alam, khususnya dari saluran pencernaan hewan, atau dari darah dan jaringan yang terinfeksi, hampir semuanya menghasilkan kapsul dan slime. Tetapi setelah di-

tumbuhkan pada lingkungan artificial (laboratorium), produksi lapisan lendir ini menjadi berkurang atau hilang sama sekali.

Hammond *et al* (1984:149) menambakan bahwa hal yang sama terjadi pada bakteri patogen seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Pyogenic pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, dan *Haemophilus influenza*. Bakteri patogen ini terlihat memiliki kapsul saat diamati menggunakan biakan yang langsung diambil dari sumber infeksi. Tetapi bakteri tersebut kehilangan kapsul setelah dilakukan sub kultur di laboratorium. Hal ini mungkin disebabkan karena terjadinya suatu modifikasi fenotip. Jika bakteri patogen ini ditumbuhkan kembali pada habitat aslinya, bakteri ini kembali membentuk kapsul. Alasan lain adalah bakteri tersebut mengalami mutasi (perubahan genetik) seperti yang terjadi pada *Pneumococcus*. Mutan tersebut ternyata memiliki virulensi yang lebih rendah dibandingkan dengan yang tidak mengalami mutasi gen.

Selain lingkungan, faktor fisik seperti temperatur, pH dan ketersediaan oksigen, ekskresi toksin juga mempengaruhi pembentukan kapsul dan slime bakteri patogen yang ditumbuhkan di laboratorium (Klement *et al*, 1990:145). Kapsul dan slime yang telah terbentuk dapat juga hilang karena mengalami difusi ke dalam medium selama fase pertumbuhan stasioner (Mandell *et al*, 1985:145).

Deteksi kapsul dan slime secara in vitro bisa dilakukan tetapi Boyd and Hoerl (1981:146) menyatakan bahwa sebagian besar mikroorganisme menghasilkan kapsul dan slime, tetapi hanya sedikit spesies yang bisa dideteksi lapisan lendirnya. Kapsul dan slime hanya bisa dideteksi pada medium bila spesies penghasil kapsul dan slime tersebut menghasilkan kapsul dan slime dalam jumlah yang sangat banyak pada kondisi alami, seperti *Klebsiella pneumoniae*.

Pembentukan kapsul dan slime telah lama dipelajari karena materi kapsular ini berperan penting dalam pembentukan tingginya spesifitas imunologis spesies tertentu. Bakteri patogen yang menghasilkan kapsul dan slime bersifat paling virulen

karena kapsul dan slime bersifat melindungi sel dari fagositosis inang. Spesies yang menghasilkan kapsul dan slime dalam jumlah yang lebih sedikit biasanya bersifat kurang virulen (Clifton, 1958;61).

KESIMPULAN

Enam spesies bakteri patogen yang diisolasi dari benih lele dumbo (*Clarias gariepinus*) yaitu *Alcaligenes* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp., *Proteus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Serratia* sp. yang diuji tidak teramati membentuk kapsul maupun slime.

DAFTAR PUSTAKA

- Angka LS. 2001. *Studi Karakterisasi dan Patologi Aeromonas hydrophila pada Ikan Lele Dumbo (Clarias gariepinus)*. IPB. Bogor.
- Beishir L. 1991. *Microbiology In Practice*. Harpers Collins Publisher Inc. USA
- Boyd RF and Hoerl BG. 1981. *Laboratory Manual to Accompany Basic Medical Microbiology*. Little Brown and Company. Boston.
- Buchanan RE and Gibbons NE. 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. The William & Wilkins Company. USA.
- Burrows W. 1959. *Text Book of Microbiology*. Saunders Company. Philadelphia.
- Clifton CE. 1958. *Introduction to the Bacterial*. McGraw-Hill Book Company, Inc. Tokyo.
- Gladwin M and Tarrtler B. 1995. *Clinical Microbiology*. McGraw-Hill International Edition. USA.
- Hadioetomo RS. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek: Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. PT. Gramedia. Jakarta.
- Hammond SM, Lambert PA and Rycroft AN. 1984. *The Bacterial Cell Surface*. Kapitan Szabo Publishers. Washington.
- Klement Z, Rudolph K and Sands DC. 1990. *Methods in Phytobacteriology*. Akademiai Kiado. Budapest.
- Mandell GL, Douglas RG and Bennet JE. 1985. *Principles and Infectious Diseases*. John Wiley & Sons, Inc. USA.
- Neidhart FC, Ingraham JL and Schaeshter M. 1990. *Physiology of the Bacterial Cell (A Molecular Approach)*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, Massachusetts.
- Noffitri I. 2003. Uji Sensitivitas Eritrosit terhadap Hemolisin yang Dihasilkan oleh Bakteri Patogen yang Diisolasi dari Benih Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA UNP. Padang.
- Pelczar MJ and Chan ECS. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2 (Alih bahasa Hadioetomo dkk)*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Pelczar MJ and Chan ECS. 1977. *Laboratory Exercises in Microbiology*. McGraw-Hill Inc. USA.
- Salle AJ. 1961. *Fundamental Principles of Bacteriology*. Kogakusha company. McGraw-Hill Book Company, Inc. Tokyo.
- Sari DK. 2002. Identifikasi Bakteri Patogen pada Benih Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* L.). *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA UNP. Padang.
- Schlegel HG. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Smith AL. 1968. *Microbiology and Pathology*. CV Mosby Company. USA.
- Susilawati F. 2003. Uji Patogenitas Bakteri Penyebab Penyakit pada Benih Lele Dumbo (*Clarias gariepinus* L.). *Skripsi*. Jurusan Biologi FMIPA UNP. Padang.