

**APLIKASI *FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROPHOTOMETRY* UNTUK
MEMBEDAKAN *Escherichia coli* GALUR MURNI DAN GALUR MUTAN**

Dewi Astriany, Syarif Hamdani, Niken Muldiyani

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia

Abstrak

Escherichia coli adalah salah satu bakteri yang dapat mengalami mutasi akibat radiasi sinar ultraviolet. Identifikasi untuk membedakan bakteri yang mengalami mutasi masih cukup sulit dan membutuhkan waktu yang lama. Spektrofotometri FT-IR dapat digunakan untuk identifikasi bakteri secara cepat dan mudah. Penelitian ini dilakukan untuk membedakan bakteri *E. coli* galur murni dan *E. coli* galur mutan (akibat radiasi ultraviolet) berdasarkan pola spektrum utama dan spektrum derivatif kedua FT-IR. Hasil penelitian menunjukkan pada spektrum utama *E. coli* galur mutan selalu muncul serapan pada bilangan gelombang 1154 – 1157 cm^{-1} yang tidak ditemukan pada spektrum *E. coli* galur murni yang diduga sebagai regang amida II protein. Spektrum derivatif kedua menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 2964 – 2967 cm^{-1} yang hanya ditemukan pada spektrum *E. coli* galur murni, di mana serapan tersebut diduga sebagai regang C-H alifatik.

Kata kunci : *Escherichia coli*, *E. coli* galur mutan, radiasi ultraviolet, spektrofotometri FT-IR

Abstract

Escherichia coli is one of bacteria which can be mutated by ultraviolet radiation. Identification of mutant bacteria still quite difficult and take a long time. FT-IR spectrophotometry can be used to identify bacteria with a simple procedure. This research had been done to distinguish the *E. coli* wild type and *E. coli* mutant (caused of ultraviolet radiation) by identification of original and second derivative FT-IR spectrum pattern. The result showed that original spectrum of *E. coli* mutant had a characteristic bands at 1154 – 1157 cm^{-1} , suspected as stretching in amide II protein. Second derivative spectrum gave an absorption at 2964-2967 cm^{-1} that was only found for *E. coli* wild type, suspected as the C-H stretching aliphatic.

Keywords : *Escherichia coli*, *E. coli* mutant, ultraviolet radiation, FT-IR spectrophotometry

PENDAHULUAN

Rusaknya lapisan ozon di atmosfer yang diakibatkan oleh zat-zat perusak ozon menyebabkan semakin banyak sinar ultraviolet mencapai bumi. Hal ini sangat berbahaya terhadap kelangsungan makhluk hidup di bumi¹.

Lapisan ozon berfungsi untuk mengabsorpsi radiasi ultraviolet yang dipancarkan matahari sebelum sampai ke permukaan bumi. Paparan ultraviolet dapat merusak kehidupan tanaman, organisme bersel satu, dan ekosistem². Hal ini memungkinkan terjadinya suatu mutasi pada organisme, karena ultraviolet merupakan salah satu mutagen yang dapat menyebabkan mutasi.

Mutasi adalah suatu perubahan pada rangkaian nukleotida dari suatu asam nukleat. Mutasi dapat berakibat pada kesalahan menyandi protein, dan keadaan ini jika tidak bersifat letal biasanya menimbulkan penampakan fenotip yang berbeda dari keadaan normalnya (Hollaender, 1995).

Bakteri *Escherichia coli* banyak digunakan dalam teknologi rekayasa genetika. *E. coli* digunakan sebagai vektor untuk menyisipkan gen-gen tertentu yang diinginkan untuk dikembangkan dan juga

merupakan flora normal dalam saluran pencernaan manusia. Dalam dunia farmasi, *E. coli* digunakan dalam produksi obat-obatan, seperti pembuatan insulin dan antibiotik.

Selain memiliki banyak manfaat, *E. coli* juga dapat menyebabkan penyakit infeksi primer pada usus besar, sehingga dapat menyebabkan penyakit diare. Pada tahun 2011, telah terjadi wabah bakteri *E. coli* di Jerman yang menyebabkan 24 orang tewas, 2.400 orang terinfeksi dan ratusan orang terkena komplikasi infeksi bakteri yang menyerang ginjal mereka.³

Metode yang digunakan untuk identifikasi organisme yang mengalami mutasi masih tergolong sulit, seperti pada metode sekuensing DNA, karena itu dibutuhkan cara analisis yang lebih cepat dan praktis, salah satunya adalah menggunakan spektrofotometri FT-IR (*Fourier-transform infrared spectrophotometry*).

Dari hasil penelitian oleh Resti Mulyawati (2014), metode spektrofotometri FT-IR (*Fourier-transform infrared spectrophotometry*) telah berhasil digunakan untuk mengidentifikasi dan membedakan spektrum *E. coli* galur murni dan *E. coli* rekombinan dengan waktu yang cepat dan relatif murah serta memiliki keakuratan yang cukup baik. Oleh karena itu, dalam penelitian ini digunakan metode

¹ Cessnasari SP, "Upaya Mengurangi Penipisan Lapisan Ozon" (On-Line), tersedia di <http://www.suaramerdeka.com/harian/0509/20/pi4.htm> (4 Desember 2014)

² Anwar Sam, "Ozon menjaga kulit kita" (On-Line), tersedia di <http://kesehatan.kompasiana.com/medis/2014/1/29/ozon-menjaga-kulit-kita-694224.html> (4 desember 2014)

³ BBC Indonesia, "Wabah *E. coli* Jerman Mencapai Puncaknya" (On-line), tersedia di http://www.bbc.co.uk/indonesia/dunia/2011/06/110608_germany.shtml. (2 Desember 2014)

spektrofotometri FT-IR untuk mengidentifikasi *E. coli* galur murni dan galur mutan.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas laboratorium, inkubator, otoklaf (My Life), mikropipet (Socorex), timbangan analitik (Hettich), spektrofotometer FT-IR (Thermo Nicolet is5), metode ZnSe ATR dan lampu ultraviolet 20 Watt (Camag).

Bahan yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli*, para dimetil amino benzaldehid, amil alkohol, HCl pekat, KOH, alfa naftol, alkohol 95%, akuades steril, NaCl fisiologis, media tumbuh bakteri, media uji IMViC, dan reagen uji IMViC.

Peremajaan Bakteri *E. coli*

E. coli dibiakkan dalam media padat agar nutrien dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Mutasi Bakteri *E. coli*

E. coli diremajakan kembali dalam media padat agar nutrien dengan waktu inkubasi 3,5 jam, kemudian ditambahkan NaCl fisiologis untuk memperoleh suspensi *E. coli*.

Suspensi biakan *E. coli* disinari dengan lampu ultraviolet 20 Watt (panjang gelombang 254 nm), pada jarak 15 cm dengan variasi waktu 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. Masing – masing suspensi diambil 0,3 mL lalu diinokulasikan dalam

media agar *Mac Conkey*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

Uji Biokimia

Uji IMViC (*Indol, Metil Merah, Voges Proskauer, Simmons Sitrato*)

Uji Indol

Pada suspensi *E. coli* dengan waktu inkubasi 24 jam ditambahkan 3–4 tetes pereaksi *Kovack's*. Reaksi indol positif ditunjukkan dengan timbulnya warna pada lapisan permukaan suspensi.

Uji Metil Merah

Bakteri *E. coli* dengan waktu inkubasi 48 jam ditambahkan 1-2 tetes pereaksi metil merah. Reaksi positif ditunjukkan dengan timbulnya warna merah.

Uji *Voges Proskauer*

Bakteri *E. coli* dengan waktu inkubasi 48 jam ditambahkan 0.5 mL larutan alfa-naftol 5% dan 1 mL larutan KOH 16%. Dikocok kuat-kuat, dibiarkan 10 menit pada suhu kamar. Reaksi positif ditunjukkan dengan timbulnya warna rosa atau merah pada permukaan biakan.

Uji *Simmons Sitrato*

Bakteri diinokulasikan pada media agar miring *Simmons Sitrato*. Reaksi positif ditunjukkan dengan timbulnya perubahan warna media agar dari warna hijau menjadi warna biru pada waktu inkubasi 24 jam.

Analisis dengan Spektrofotometri FT-IR

Sampel *E. coli* yang didapatkan dari masing-masing preparasi dianalisis menggunakan Spektrofotometri Fourier

Transform Infrared (FT-IR). Puncak absorbansi inframerah untuk bakteri gram negatif berada dikisaran antara 4000 cm^{-1} dan 500 cm^{-1} (Naumann, 1991).

Spektrum FT-IR yang dianalisis akan menunjukkan kontribusi semua makromolekul seluler, termasuk protein, lipid, karbohidrat dan asam nukleat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi *E. coli*

Hasil pembiakan *E. coli* dengan waktu inkubasi 3,5 jam menghasilkan koloni berwarna putih dan tidak berbau. Pemilihan waktu inkubasi ini dikarenakan pada waktu tersebut *E. coli* sedang mengalami fase *mid log*, dimana sel - sel sedang berada dalam kondisi aktif melakukan metabolisme. Pada fase tersebut terjadi pembelahan sel yang sangat cepat dan efek radiasi dapat terjadi secara maksimal.

Mutasi *E. coli*

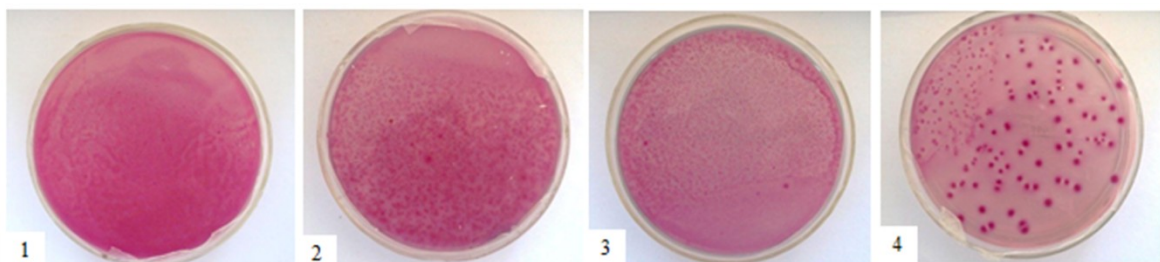
Mutasi *E. coli* dilakukan dengan menggunakan lampu ultraviolet 20 Watt, panjang gelombang 254 nm, jarak 15 cm, dengan variasi waktu 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. *E. coli* dengan penyinaran

ultraviolet selanjutnya disebut sebagai *E. coli* galur mutan, sedangkan *E. coli* tanpa penyinaran ultraviolet selanjutnya disebut sebagai *E. coli* galur murni.

Dari hasil penyinaran terlihat secara visual jumlah dan bentuk koloni yang sangat berbeda pada sampel bakteri dengan lama penyinaran 20 menit seperti terlihat pada gambar 1. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh radiasi sinar ultraviolet. Sinar ultraviolet akan menimbulkan hubungan silang antara pasangan – pasangan molekul timin pada DNA yang dapat menyebabkan salah baca kode genotip yang akan menghasilkan mutasi sehingga akan merusak atau memperlemah fungsi – fungsi vital organisme dan kemudian akan membunuhnya. Karena itu diperlukan penyesuaian diri yang terjadi secara cepat, seperti berubahnya bentuk morfologi serta sifat-sifat fisiologi yang turun menurun, baik secara tetap maupun terjadi secara sementara.

Uji IMViC (Indol, Metil Merah, *Voges Proskauer*, dan *Simmons Citrate*)

Uji IMViC yang terdiri dari uji indol, uji metil merah, uji *Voges Proskauer*, dan uji



Gambar 1. Induksi mutasi bakteri *E. coli* menggunakan lampu ultraviolet. 1. *E. coli* Wild Type; 2. Mutan *E. coli* (10 menit); 3. Mutan *E. coli* (15 menit); 4. Mutan *E. coli* (20 menit)

Simmons citrate dilakukan untuk mengidentifikasi reaksi biokimia dari masing-masing sampel bakteri *E. coli*. Bakteri *E. coli* diinokulasikan ke dalam beberapa media yang sesuai untuk uji IMViC. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1 dan visualisasi pada gambar 2.

Uji Indol dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang mempunyai enzim triptopanase yang mampu mengoksidasi asam amino triptofan membentuk indol. Hasil pengujian semua sampel bakteri menunjukkan reaksi positif uji Indol. Hal ini dapat dikatakan bahwa mutasi menggunakan sinar ultraviolet tidak mempengaruhi enzim triptopanase dalam membentuk indol.

Uji metil merah dilakukan untuk mengetahui adanya pembentukan asam pada pH di bawah 4. Dari hasil uji metil merah, sampel bakteri yang memberikan reaksi positif adalah *E. coli Wild type*, mutan *E.*

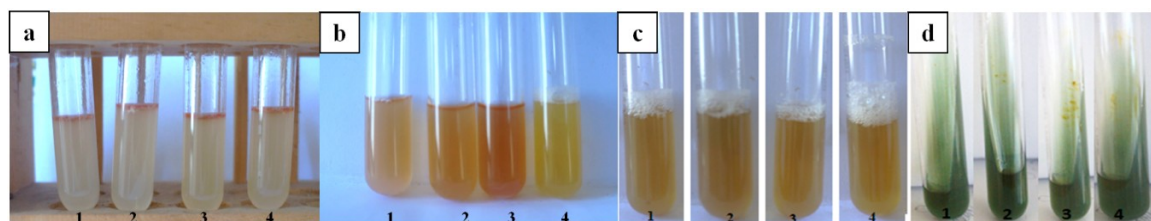
coli 10 menit, dan mutan *E. coli* 15 menit. Pada sampel bakteri mutan *E. coli* 20 menit menunjukkan hasil negatif uji metil merah dengan warna larutan berwarna kuning. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mutan *E. coli* 20 menit tidak dapat memfermentasikan glukosa sehingga tidak menghasilkan produk yang bersifat asam (asam format, asam laktat, dan asam suksinat) yang akan mengubah media menjadi berwarna merah.

Uji *Voges Proskauer* dilakukan untuk mengidentifikasi mikroorganisme yang dapat memfermentasi karbohidrat menjadi 2,3 - butanadiol sebagai produk utama. Hasil uji *Voges Proskauer*, semua sampel bakteri memberikan reaksi negatif. Hal ini menunjukkan bahwa semua sampel tidak dapat memfermentasi glukosa menjadi asetil metil karbonil.

Uji *Simmons citrate* dilakukan untuk mengidentifikasi bakteri yang menggunakan sitrat sebagai sumber karbon. Dari hasil uji

Tabel 1. Hasil Uji IMViC (Indol, Metil Merah, dan Voges Proskauer)

No	Sampel Bakteri	Uji IMViC			
		Indol	Metil Merah	<i>Voges Proskauer</i>	<i>Simmons Sitrat</i>
1	Bakteri <i>E. coli</i>	+	+	-	-
2	Bakteri mutan <i>E. coli</i> 10 menit	+	+	-	-
3	Bakteri mutan <i>E. coli</i> 15 menit	+	+	-	-
4	Bakteri mutan <i>E. coli</i> 20 menit	+	-	-	-



Gambar 2. Hasil Uji IMViC Bakteri *E. coli*
 a. Uji Indol b. Uji Metil Merah c. Uji Voges Proskauer d. Uji Simmons Sitrat
 1. *E. coli Wild Type* 2. Mutan *E. coli* (10 menit) 3. Mutan *E. coli* (15 menit) 4. Mutan *E. coli* (20 menit)

Simmons citrate, semua sampel bakteri memberikan reaksi negatif. Hal ini menunjukkan bahwa semua sampel tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon.

Hasil uji IMViC menunjukkan bahwa bakteri *E. coli* yang dimutasi dengan lampu UV selama 20 menit mengalami perbedaan pada reaksi uji metil merah. Hal tersebut menunjukkan bahwa penyinaran menggunakan lampu ultraviolet dapat mempengaruhi reaksi biokimia bakteri, meskipun dengan hasil uji IMViC tersebut belum dapat dinyatakan bahwa bakteri *E. coli* telah termutasi.

Hasil Analisis Spektrofotometri FT-IR

Terdapat lima wilayah spektrum yang secara umum digunakan untuk menganalisis

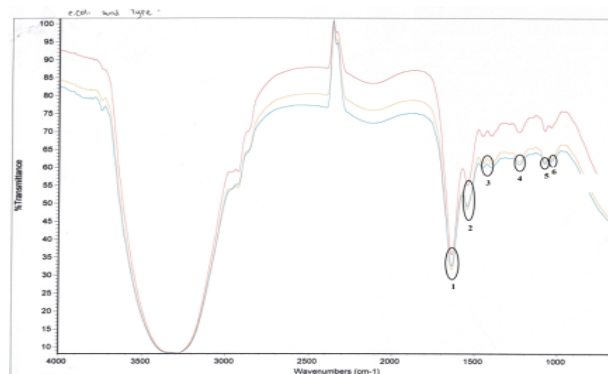
dan mengidentifikasi suatu bakteri, yaitu berupa wilayah spektrum 3000–2800 cm^{-1} yang menunjukkan bilangan gelombang asam lemak, wilayah 1700–1500 cm^{-1} menunjukkan bilangan gelombang amida I dan amida II dalam protein dan peptida, wilayah 1500–1200 cm^{-1} menunjukkan bilangan gelombang campuran asam lemak, protein dan fosfat, wilayah 1200–900 cm^{-1} berisi bilangan gelombang karbohidrat yang terdapat dalam dinding sel bakteri, dan wilayah 900–700 cm^{-1} adalah wilayah sidik jari.

Bakteri *E. coli* yang sudah dipisahkan dari agar *Mac Conkey*, dianalisis menggunakan spektrofotometri FT-IR. Pada gambar 3 ditunjukkan hasil spektrum yang identik, sehingga spektrum ini dapat dikatakan *repeatable*. Berdasarkan spektrum

Tabel 2. Interpretasi hasil spektrum FT-IR bakteri *E. coli Wild Type*

Bilangan Gelombang	Gugus fungsi
1544 – 1547 cm^{-1}	Amida II (protein N-H bend, C-N stretch): α helices
1453 – 1456 cm^{-1}	CH_2 Bending lipids
1235 – 1238 cm^{-1}	PO_2 asymmetric stretching nucleic acids
1079 – 1081 cm^{-1}	PO_2 symmetric stretching nucleic acids and Phospholipids
1038 – 1041 cm^{-1}	C=O, P=O, P-O-C (P-O-P) asymmetric stretching (Glycopeptides, ribose, aliphatic esters)

*R. Davis and L.J Mauer, Barbara Stuart, Sebmen Garip, Znedek Filip.



Gambar 3. Spektrum FT-IR bakteri *E. coli Wild Type*

1. Bilangan gelombang antara 1637 – 1640 cm^{-1} ,
2. Bilangan gelombang antara 1544 – 1547 cm^{-1} ,
3. Bilangan gelombang antara 1453 – 1456 cm^{-1} ,
4. Bilangan gelombang antara 1235 – 1238 cm^{-1} ,
5. Bilangan gelombang antara 1079 – 1081 cm^{-1} ,
6. Bilangan gelombang antara 1038 – 1041 cm^{-1}

yang terbentuk, diduga bakteri *E. coli* memiliki gugus fungsi seperti pada Tabel 2.

Bakteri mutan *E. coli* 10 menit yang sudah dipisahkan dari agar *Mac Conkey* kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometri FT-IR. Gambar 4 menunjukkan hasil spektrum yang identik, sehingga spektrum ini dapat dikatakan *repeatable*. Mutan *E. coli* 10 menit diduga memiliki gugus fungsi seperti pada tabel 3.

Pada analisis spektrum mutan *E. coli* 10 menit, terlihat perbedaan spektrum pada bilangan gelombang antara 1154–1157 cm^{-1} yang tidak muncul pada bakteri *E. coli galur murni*. Bilangan gelombang tersebut menunjukkan gugus fungsi *CO-O-C*

asymmetric stretching : glikogen dan asam-asam nukleat.

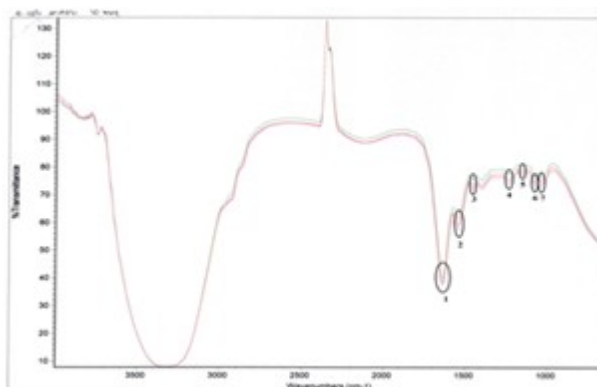
Mutan *E. coli* 15 menit diduga memiliki gugus fungsi seperti pada tabel 4. Analisis spektrum mutan *E. coli* 15 menit pada gambar 5, muncul bspektrum pada bilangan gelombang antara 2933–2936 cm^{-1} dan 1154–1157 cm^{-1} yang tidak ada pada bakteri *E. coli Wild Type*. Spektrum pada bilangan gelombang 2933–2936 cm^{-1} juga tidak muncul pada mutan *E. coli* 10 menit. Bilangan gelombang 2933–2936 cm^{-1} tersebut diduga menunjukkan gugus fungsi *C-H asymmetric stretching* dalam asam lemak yang terdapat pada bakteri.

Analisis menggunakan spektro-

Tabel 3. Interpretasi hasil spektrum FT-IR bakteri mutan *E. coli* 10 menit

Bilangan Gelombang	Gugus fungsi
1544 – 1547 cm^{-1}	Amida II (protein N-H bend, C-N stretch): α helices
1453 – 1456 cm^{-1}	CH_2 Bending lipids
1235 - 1238 cm^{-1}	PO_2 asymmetric stretching nucleic acids
1079 – 1081 cm^{-1}	PO_2 symmetric stretching nucleic acids and Phospholipids
1154 – 1157 cm^{-1}	<i>CO-O-C asymmetric stretching: glycogen and nucleic acids</i>
1038 – 1041 cm^{-1}	C=O, P=O, P-O-C (P-O-P) asymmetric stretching (Glycopeptides, ribose, aliphatic esters)

*R. Davis and L.J Mauer, Barbara Stuart, Sebmen Garip, Znedek Filip.



Gambar 4. Spektrum FT-IR bakteri mutan *E. coli* 10 menit

1. Bilangan gelombang antara 1637 – 1640 cm^{-1} ,
2. Bilangan gelombang antara 1544 – 1547 cm^{-1} ,
3. Bilangan gelombang antara 1453 – 1456 cm^{-1} ,
4. Bilangan gelombang antara 1235 - 1238 cm^{-1} ,
5. Bilangan gelombang antara 1154 – 1157 cm^{-1} ,
6. Bilangan gelombang antara 1079 – 1081 cm^{-1} ,
7. Bilangan gelombang antara 1038 – 1041 cm^{-1}

fotometri FT-IR menunjukkan hasil spektrum yang identik, sehingga spektrum ini juga dapat dikatakan *repeatable*.

Mutan *E. coli* 20 menit diduga memiliki gugus fungsi seperti pada Tabel 5. Analisis spektrum mutan *E. coli* 20 menit pada gambar 6, terdapat spektrum yang hilang yaitu pada bilangan gelombang antara 1544 – 1547 cm^{-1} dan 1453 – 1456 cm^{-1}

yang muncul pada bakteri *E. coli Wild Type*.

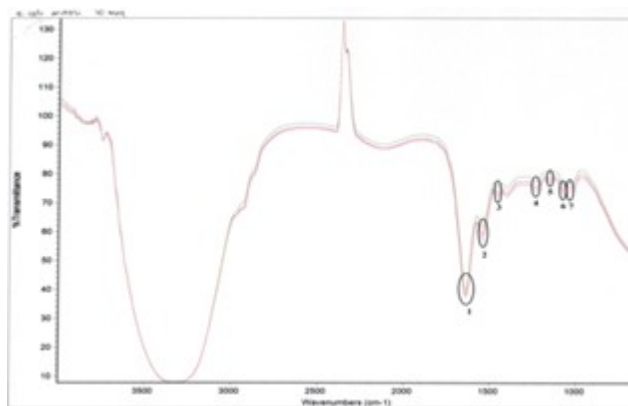
Bilangan gelombang 1544–1547 cm^{-1} tersebut diduga menunjukkan gugus fungsi Amida II (protein N-H bend, C-N stretch): α -helices dan 1453–1456 cm^{-1} diduga menunjukkan gugus fungsi CH_2 bending lipids dalam asam lemak yang ada dalam bakteri.

Hasil analisis dengan spektrofotometri

Tabel 4. Interpretasi hasil spektrum FT-IR bakteri mutan *E. coli* 15 menit

Bilangan Gelombang	Gugus fungsi
2933 – 2936 cm^{-1}	C-H asymmetric stretching fatty acid
1544 – 1547 cm^{-1}	Amida II (protein N-H bend, C-N stretch): α helices
1453 – 1456 cm^{-1}	CH_2 Bending lipids
1235 - 1238 cm^{-1}	PO_2 asymmetric stretching nucleic acids
1079 – 1081 cm^{-1}	PO_2 symmetric stretching nucleic acids and Phospholipids
1154 – 1157 cm^{-1}	CO-O-C asymmetric stretching: glycogen and nucleic acids
1038 – 1041 cm^{-1}	C=O, P=O, P-O-C (P-O-P) asymmetric stretching (Glycopeptides, ribose, aliphatic estrers)

*R. Davis and L.J Mauer, Barbara Stuart, Sebmen Garip, Znedek Filip.



Gambar 5. Spektrum FT-IR bakteri mutan *E. coli* 15 menit

1. Bilangan gelombang antara 2933 – 1936 cm^{-1} ,
2. Bilangan gelombang antara 1637 – 1640 cm^{-1} ,
3. Bilangan gelombang antara 1544 – 1547 cm^{-1} ,
4. Bilangan gelombang antara 1453 – 1456 cm^{-1} ,
5. Bilangan gelombang antara 1235 - 1238 cm^{-1} ,
6. Bilangan gelombang antara 1154 – 1157 cm^{-1} ,
7. Bilangan gelombang antara 1079 – 1081 cm^{-1} ,
8. Bilangan gelombang antara 1038 – 1041 cm^{-1}

Tabel 5. Interpretasi hasil spektrum FT-IR bakteri mutan *E. coli* 20 menit

Bilangan Gelombang	Gugus fungsi
2933 – 2936 cm^{-1}	C-H asymmetric stretching fatty acid
1235 – 1238 cm^{-1}	PO_2 asymmetric stretching nucleic acids
1079 – 1081 cm^{-1}	PO_2 symmetric stretching nucleic acids and Phospholipids
1154 – 1157 cm^{-1}	CO-O-C asymmetric stretching: glycogen and nucleic acids
1035 – 1038 cm^{-1}	C=O, P=O, P-O-C (P-O-P) asymmetric stretching (Glycopeptides, ribose, aliphatic estrers)

*R. Davis and L.J Mauer, Barbara Stuart, Sebmen Garip, Znedek Filip.

FT-IR menunjukkan bahwa terjadi perbedaan spektrum dari masing-masing bakteri *E. coli* yang dimutasi dengan *E. coli Wild Type* seperti terangkum pada Tabel 6. Berdasarkan spektrum yang terbentuk, ada spektrum yang selalu muncul ketika bakteri *E. coli* dimutasi, yaitu pada bilangan gelombang 1154–1157 cm^{-1} (amida II dalam protein).

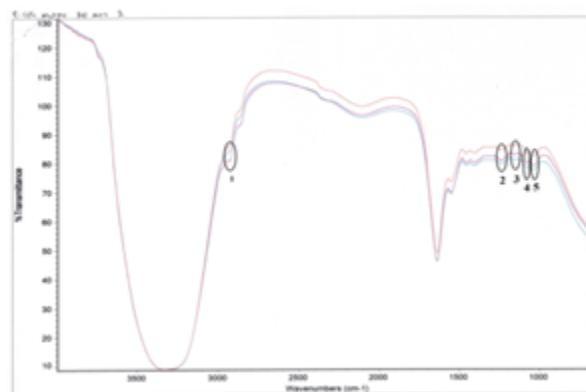
Analisis spektrum derivatif kedua digunakan untuk klasifikasi bakteri, analisis fase pertumbuhan bakteri, dan mendeteksi kerusakan sel bakteri karena panas, klorin, radikal dan sonikasi. Hal ini dikarenakan spektrum derivatif kedua mengurangi

variabilitas ulang, mengatasi tumpang tindih puncak, dan memperkuat variasi spektrum (Davis, 2010), karena itu dilakukan analisis spektrum derivatif semua sampel bakteri *E. coli*.

Analisis Spektrum Derivatif Kedua

Berdasarkan spektrum yang terbentuk pada gambar 7, diduga bakteri *E. coli Wild Type* memiliki gugus fungsi seperti pada Tabel 7, sedangkan bakteri mutan *E. coli* 10 menit memiliki gugus fungsi seperti pada Tabel 8.

Pada analisis spektrum derivatif kedua mutan *E. coli* 10 menit (Gambar 8), terlihat



Gambar 6. Spektrum FT-IR bakteri mutan *E. coli* 20 menit

1. Bilangan gelombang antara 1637 – 1640 cm^{-1} ,
2. Bilangan gelombang antara 1235 – 1238 cm^{-1} ,
3. Bilangan gelombang antara 1154 – 1157 cm^{-1} ,
4. Bilangan gelombang antara 1079 – 1081 cm^{-1} ,
5. Bilangan gelombang antara 1035 – 1038 cm^{-1}

Tabel 6. Perbandingan spektrum FT-IR bakteri *E. coli*, bakteri mutan *E. coli* 10 menit, bakteri mutan *E. coli* 15 menit, dan bakteri mutan *E. coli* 20 menit.

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	<i>E. coli</i>	Mutan <i>E. coli</i> 10 menit	Mutan <i>E. coli</i> 15 menit	Mutan <i>E. coli</i> 20 menit
2933-2936			√	
1637-1640	√	√	√	√
1544-1547	√	√	√	
1453-1456	√	√	√	
1235-1238	√	√	√	√
1154-1157		√	√	√
1079-1081	√	√	√	√
1035-1041	√	√	√	√

muncul puncak pada bilangan gelombang antara 1457–1460 cm^{-1} dan 1154–1157 cm^{-1} yang tidak muncul pada bakteri *E. coli* galur induk. Bilangan gelombang 1457–1460 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi CH_2 *bending lipids* dan 1154–1157 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi CO-O-C asymmetric

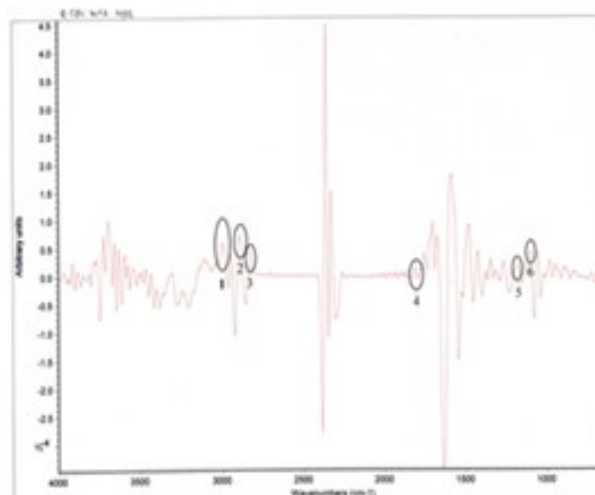
stretching : glikogen dan asam-asam nukleat.

Berdasarkan spektrum derivatif kedua yang terbentuk pada gambar 9, bakteri mutan *E. coli* 15 menit memiliki spektrum yang sama dengan bakteri mutan *E. coli* 10 menit, yaitu dengan munculnya puncak pada

Tabel 7. Interpretasi hasil spektrum FT-IR derivatif kedua *E. coli* Wild Type

Bilangan Gelombang	Gugus fungsi
2964 – 2967 cm^{-1}	C-H <i>stretching in aliphatics of cell walls (Fatty acid, carbohydrates)</i>
2923 – 2926 cm^{-1}	CH_2 <i>asymmetric stretching lipids</i>
2856 – 2859 cm^{-1}	CH_2 <i>symmetric stretching lipids</i>
1742 – 1745 cm^{-1}	Ester C=O <i>stretch lipid, triglycerides</i>
1239 – 1241 cm^{-1}	PO_2^- <i>asymmetric stretching nucleic acids</i>
1081 – 1083 cm^{-1}	PO_2^- <i>symmetric stretching nucleic acids and phospholipids</i>

*R. Davis and L.J Mauer, Barbara Stuart, Sebmen Garip, Znedek Filip.



Gambar 7. Spektrum FT-IR derivatif kedua bakteri *E. coli* Wild Type

1. Bilangan gelombang antara 2964–2967 cm^{-1} ,
2. Bilangan gelombang antara 2923–2926 cm^{-1} ,
3. Bilangan gelombang antara 2856–2859 cm^{-1} ,
4. Bilangan gelombang antara 1742–1745 cm^{-1} ,
5. Bilangan gelombang antara 1239–1241 cm^{-1} ,
6. Bilangan gelombang antara 1081–1083 cm^{-1} .

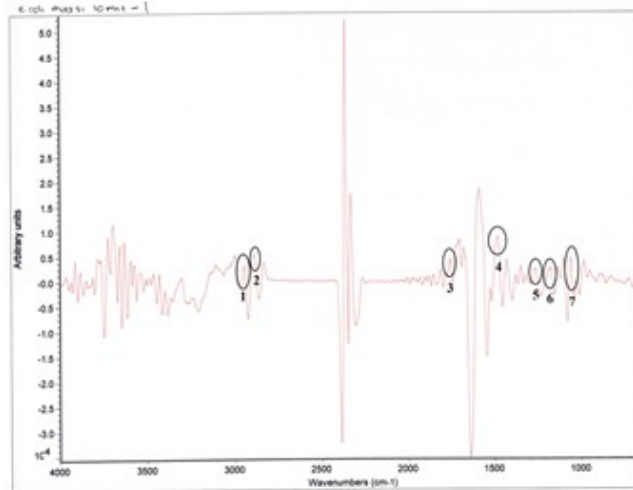
Tabel 8. Interpretasi hasil spektrum FT-IR derivatif kedua *E. coli* mutasi 10 menit

Bilangan Gelombang	Gugus fungsi
2923 – 2926 cm^{-1}	CH_2 <i>asymmetric stretching lipids</i>
2856 – 2859 cm^{-1}	CH_2 <i>symmetric stretching lipids</i>
1742 – 1745 cm^{-1}	Ester C=O <i>stretch lipid, triglycerides</i>
1457 – 1560 cm^{-1}	CH_2 <i>Bending lipids</i>
1239 – 1241 cm^{-1}	PO_2^- <i>asymmetric stretching nucleic acids</i>
1154 – 1157 cm^{-1}	$\text{CO-O-C asymmetric stretching glycogen and nucleic acids}$
1081 – 1083 cm^{-1}	PO_2^- <i>symmetric stretching nucleic acids and phospholipids</i>

*R. Davis and L.J Mauer, Barbara Stuart, Sebmen Garip, Znedek Filip.

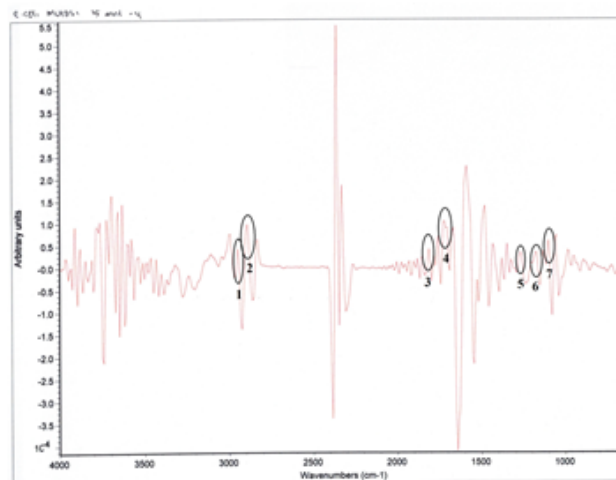
bilangan gelombang antara 1457–1460 cm^{-1} dan 1154–1157 cm^{-1} yang tidak muncul pada bakteri *E. coli Wild Type*.

Pada analisis spektrum derivatif kedua *E. coli* mutasi 20 menit yang ditunjukkan oleh gambar 10, terdapat dua



Gambar 8. Spektrum FT-IR derivatif kedua bakteri mutan *E. coli* 10 menit.

1. Bilangan gelombang antara 2923– 926 cm^{-1} ,
2. Bilangan gelombang antara 2856–2859 cm^{-1} ,
3. Bilangan gelombang antara 1742–1745 cm^{-1} ,
4. Bilangan gelombang antara 1457–1560 cm^{-1} ,
5. Bilangan gelombang antara 1239–1241 cm^{-1} ,
6. Bilangan gelombang antara 1154–1157 cm^{-1} ,
7. Bilangan gelombang antara 1081–1083 cm^{-1} .



Gambar 9. Spektrum FT-IR derivatif kedua bakteri mutan *E. coli* 15 menit

1. Bilangan gelombang antara 2923–2926 cm^{-1} ,
2. Bilangan gelombang antara 2856–2859 cm^{-1} ,
3. Bilangan gelombang antara 1742–1745 cm^{-1} ,
4. Bilangan gelombang antara 1457–1560 cm^{-1} ,
5. Bilangan gelombang antara 1239–1241 cm^{-1} ,
6. Bilangan gelombang antara 1154–1157 cm^{-1} ,
7. Bilangan gelombang antara 1081–1083 cm^{-1} .

Tabel 9. Interpretasi hasil spektrum FT-IR bakteri mutan *E. coli* 20 menit

Bilangan Gelombang	Gugus fungsi
2923 – 2926 cm^{-1}	CH_2 asymmetric stretching lipids
2856 – 2859 cm^{-1}	CH_2 symmetric stretching lipids
1081 – 1083 cm^{-1}	PO_2 symmetric stretching nucleic acids and phospholipids

*R. Davis and L.J Mauer, Barbara Stuart, Sebmén Garip, Znedek Filip.

puncak yang hilang, seperti pada bilangan gelombang antara 1742–1745 cm^{-1} dan 1239–1141 cm^{-1} yang muncul pada bakteri *E. coli Wild Type*. Bilangan gelombang 1742–1745 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi ester C=O *stretch lipid, triglycerides* dan 1239–1141 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi PO_2^- *asymmetric stretching nucleic acids*.

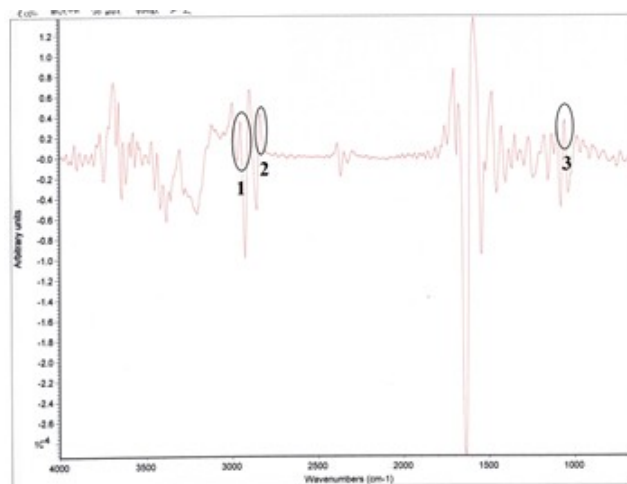
Berdasarkan spektrum yang terbentuk, diduga bakteri mutan *E. coli* 20 menit memiliki gugus fungsi seperti pada Tabel 9. Perbandingan spektrum FT-IR derivatif kedua bakteri *E. coli*, mutan *E. coli* 10 menit, mutan *E. coli* 15 menit, dan mutan *E. coli* 20 menit dapat dilihat pada Tabel 10.

Hasil analisis spektrum utama dan spektrum derivatif kedua, terjadi perubahan spektrum yang muncul atau menghilang pada bakteri *E. coli* yang dimutasi, baik itu terjadi pada asam lemak, protein, dan asam nukleat yang terkandung dalam sel bakteri.

SIMPULAN

Penelitian ini membuktikan bahwa metode spektrofotometri FT-IR (*Fourier-transform infrared spectroscopy*) dapat digunakan untuk mengetahui pengaruh sinar ultraviolet sebagai mutagen pada bakteri *E. coli*.

Pada analisis spektrum utama sampel



Gambar 10. Spektrum FT-IR derivatif kedua bakteri *E. coli* mutasi 20 menit.
 1. Bilangan gelombang antara 2923– 926 cm^{-1} , 2. Bilangan gelombang antara 2856–2859 cm^{-1} ,
 3. Bilangan gelombang antara 1081–1083 cm^{-1}

Tabel 10. Perbandingan spektrum FT-IR derivatif kedua bakteri *E. coli*, mutan *E. coli* 10 menit, mutan *E. coli* 15 menit, dan mutan *E. coli* 20 menit.

Bilangan Gelombang	<i>E. coli</i>	Mutan <i>E. coli</i> 10 menit	Mutan <i>E. coli</i> 15 menit	Mutan <i>E. coli</i> 20 menit
2964-2967 cm^{-1}	√			
2923-2926 cm^{-1}	√	√	√	√
2856-2859 cm^{-1}	√	√	√	√
1742-1745 cm^{-1}	√	√	√	
1457-1460 cm^{-1}		√	√	
1239-1241 cm^{-1}	√	√	√	
1154-1157 cm^{-1}		√	√	
1081-1083 cm^{-1}	√	√	√	√

bakteri *E. coli* yang dimutasi, selalu muncul spektrum pada bilangan gelombang 1154 – 1157 cm^{-1} (Amida II dalam protein) yang tidak muncul pada bakteri *E. coli Wild Type*. Pada hasil analisis spektrum derivatif kedua, ada spektrum yang tidak muncul pada bakteri *E. coli* yang dimutasi, yaitu pada bilangan gelombang 2964 – 2967 cm^{-1} yang diduga sebagai regang C-H yang berasal dari dinding sel bakteri. Pada spektrum derivatif kedua juga terlihat bahwa ada dua wilayah spektrum bakteri *E. coli* mutasi 20 menit yang hilang, yaitu pada bilangan gelombang 1742 – 1745 cm^{-1} (ester C=O stretch lipid, triglycerides) serta pada 1239 – 1241 cm^{-1} (PO_2^- asymmetric stretching nucleic acids).

DAFTAR PUSTAKA

- Creswell, C.J., Runquist, O.A., Campbell, M.M. 2005. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Edisi ke 3. Penerbit ITB. Bandung, Hal. 60-100.
- Davis., R & Mauer., L.J. 2010. *Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopy: A rapid tool for detection and analysis of foodborne pathogenic bacteria*. Indiana, USA. Page 1582-1594.
- Filip, Z., Hermann, Susanne, Demnerova, & Katerina. 2010. FT-IR Spectroscopic Characteristic of Differently Cultivated *Escherichia coli*. *Microbiol. Res.*, Vol. 26. Page 458–463.
- Hollaender, A. 1995. *Radiation Biology*. Vol II : *Ultraviolet and Related Radiations*. McGraw-Hill. London. Page :365-396.
- Levine, S., Stevenson, H.J.R., Chambers, L.A., Kenner, B.A. 1953. Infrared spectrophotometry of enteric bacteria. *J. Bacteriol.* 65 : 10-15.
- Mulyawati, R. 2014. *Analisis bakteri Escherichia coli dan Bakteri Escherichia coli Rekombinan Menggunakan FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)*. Skripsi. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung. Hal. 25-30.
- Naumann D, Helm D, Labischinski, H. 1991. Microbiological characterizations by FT-IR spectroscopy. *Nature*. 351 : 81-82.
- Rahmawati, H. 2014. *Identifikasi Bakteri Shigella dysenteriae dengan Menggunakan Spektrofotometri Fourier Transform Infrared (FT-IR)*. Skripsi. Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia, Bandung. Hal. 31-40.
- Silverstein, R.M., Webster, F.X., & Kiemle, D.J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds : Seventh Edition*. New Jersey. John Wiley and Sons, Inc. Page 72-108.
- Zarnowiec, P., Lechowicz, L., Czerwonka, G., Kaca, W. 2015. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) as a Tool for the Identification and Differentiation of Pathogenic Bacteria. *Current Medicinal Chemistry*. Vol.22(14) : 1710-1718.