

Peranan Pompa Proton pada Pertumbuhan *Escherichia coli* di Lingkungan pH Alkali

Roles of Proton Pumps in the Growth of Escherichia coli Under Alkaline pH Environment

M. Yusuf^{1*}, H. Kurniawan¹, A. B. R. Pahlevi¹, Anton¹, C. Budiman², I. I. Arief²

¹Program Studi Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan,
Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

²Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan Fakultas Peternakan,
Institut Pertanian Bogor, Bogor 16680

* Corresponding Author: m.yusuf08@yahoo.com

ABSTRACT

Proton pump, which could be activated by sugar compound, is known to be involved in low pH adaptation in various bacteria. Indeed, we have previously confirmed that *E. coli* was also known to employ the pump for its adaptation at low pH. Nevertheless, it remains to be confirmed if the growth of *E. coli* at alkaline pH also involves the similar mechanism, by which the pump is involved. This study aimed to analyze the growth of *E. coli* in broth media on alkaline pH and various concentration of glucose as an activator for the proton pump. The method used in this research was a completely randomized design factorial pattern, whereby the bacteria were grown in Luria-Bertani (LB) broth with different conditions. The growth curve was monitored using UV-vis absorbance at 600 nm and analyzed descriptively. The results showed that pH on the media greatly influenced the growth rate of *E. coli* bacteria. In general, *E. coli* grown in media with a pH of 12 requires a longer lag phase compared to *E. coli* grown on media with a pH of 7. Addition of glucose at a concentration of 5% was able to improve the growth rate of *E. coli* in both media with pH 7 and 12. The conclusion of this study was environmental stress due to increased pH of the media can slow the growth rate of *E. coli* bacteria, where the addition of 5% glucose can help improve *E. coli* growth rates. Altogether, glucose was found to have no serious effect on the growth of *E. coli* at alkaline pH which suggest that the involvement of proton pump for adaptation at the alkaline pH was minimum.

Key words: *E. coli*, growth chart, lag phase, pH alkaline

ABSTRAK

Pompa proton, yang dapat diaktifkan oleh senyawa gula, diketahui terlibat dalam adaptasi pH rendah di berbagai bakteri. Kami telah mengkonfirmasi sebelumnya bahwa *E. coli* juga dikenal menggunakan pompa untuk adaptasinya pada pH rendah. Namun demikian, masih harus dikonfirmasi apakah pertumbuhan *E. coli* pada pH basa juga melibatkan mekanisme yang sama, dimana pompa terlibat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pertumbuhan *E. coli* dalam media Luria-Bertani (LB) pada pH basa dan berbagai konsentrasi glukosa sebagai aktivator untuk pompa proton. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap pola faktorial, dimana bakteri ditanam dalam kaldu Luria-Bertani (LB) dengan kondisi yang berbeda. Kurva pertumbuhan diukur menggunakan absorbansi UV-vis pada 600 nm dan dianalisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH pada media sangat mempengaruhi tingkat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Secara umum, *E. coli* yang ditanam di media dengan pH 12 membutuhkan fase lag yang lebih lama dibandingkan dengan *E. coli* yang ditanam di media dengan pH 7. Penambahan glukosa pada konsentrasi 5% mampu meningkatkan laju pertumbuhan *E. coli* di kedua media dengan pH 7 dan 12. Kesimpulan dari penelitian ini adalah stres lingkungan karena peningkatan pH media dapat memperlambat laju pertumbuhan bakteri *E. coli*, dimana penambahan 5% glukosa dapat membantu meningkatkan tingkat pertumbuhan *E. coli*. Secara keseluruhan, glukosa ditemukan tidak memiliki efek serius pada pertumbuhan *E. coli* pada pH basa yang menunjukkan bahwa keterlibatan pompa proton untuk adaptasi pada pH basa adalah minimum.

Kata kunci: *E. coli*, fase adaptasi, grafik pertumbuhan, pH alkali

PENDAHULUAN

Salah satu bidang mikrobiologi modern yang menarik untuk dipelajari adalah mekanisme adaptasi suatu mikroorganisme

terhadap stres lingkungan. Kemampuan mikroorganisme dalam merasakan dan merespon perubahan kondisi lingkungan disekitarnya menjadi sangat vital untuk keberlangsungan hidup mereka. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa kemampuan berbagai jenis mikroorganisme dalam menghadapi cekaman stres lingkungan selalu ditandai dengan perubahan pada level genetik, biokimia dan struktur fisiknya. Masing-masing dari mikroorganisme tersebut memiliki suatu sistem strategi yang berbeda dalam merespon dan menghadapi *single* maupun *multiple stress*.

Kondisi stres lingkungan yang sering ditemukan di alam diantaranya adalah perubahan ketersediaan nutrisi (Bleotu *et al.*, 2017; Costanzo dan Ades, 2006), cekaman panas (Noor *et al.*, 2013), stres oksidatif (Desnues *et al.*, 2003), dan juga perubahan pH pada media pertumbuhan (Wihansah *et al.*, 2018). Beberapa jenis mikroorganisme termasuk di dalamnya bakteri *Escherichia coli* (Murata *et al.*, 2012), *Salmonella* (Foster dan Spector, 1995), dan *Pseudomonas* (Givskov *et al.*, 1994) terbukti mempunyai suatu mekanisme canggih pada intraselulernya dalam merespon perubahan yang terjadi pada lingkungan pertumbuhannya. Pada saat fase stasioner, dimana kondisi nutrisi di dalam media pertumbuhan sudah mulai habis, beberapa gen yang aktif terlibat dalam pertumbuhan *E. coli* akan berhenti ekspresi dan sebaliknya gen-gen yang tidak terlibat dalam pertumbuhan akan menjadi terekspresi (Ishihama, 1999).

Wihansah *et al.* (2018) melaporkan bahwa media Luria-Bertani (LB) *broth* yang telah diberi cekaman pH rendah (pH 4) terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*. Lebih lanjut dijelaskan bahwa penambahan glukosa hingga 50% mampu meningkatkan pertumbuhan bakteri *E. coli* hingga jam ke 29. Penambahan glukosa pada media pertumbuhan tersebut dimaksudkan untuk mendukung kinerja dari pompa proton. Pompa proton merupakan protein membran yang memiliki fungsi utama mengatur lalu lintas proton (H⁺) melalui membran sel atau organel sel. Fungsi transportasi proton oleh pompa ini terjadi melalui perubahan struktur/konformasi pompa yang diinduksi energi tertentu. Energi penginduksi tersebut bisa dari cahaya, transfer electron atau

metabolit-metabolit yang kaya energi (Maurer *et al.*, 2005). Lebih jauh dijelaskan bahwa pompa proton pada bakteri berfungsi untuk menjaga *homeostasis* pH internal tetap terjaga ketika pH eksternal bakteri menjadi asam.

Namun demikian, belum ada peneliti yang melaporkan apakah kemungkinan pompa proton tersebut juga bekerja pada saat pH eksternal bakteri menjadi sangat tinggi (pH basa). Berdasarkan uraian di atas, maka tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah untuk menganalisis pertumbuhan bakteri *E. coli* pada media LB *broth* yang diberi cekaman lingkungan basa dan penambahan konsentrasi glukosa yang berbeda sebagai bentuk respon toleransi basa. Pemilihan *E. coli* pada penelitian ini terutama karena pertumbuhan bakteri ini secara teknis mudah dan merupakan bakteri moderate yang memiliki pH optimum di rentang pH normal.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah kultur bakteri *E. coli* yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Terpadu, Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor. Bahan lain yang digunakan yaitu LB *broth*, miller (Luria-Bertani, Difco, France), NaOH (Merck, Germany), dan glukosa (Merck, Germany). Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *laminar air flow*, timbangan analitik, pH meter elektronik (Schott Instrument Lab 850, Jerman), tabung reaksi, *autoclaf* (TOMY, Japan), inkubator, mikropipet (1000µl dan 100µl), dan spektrofotometer (Agilent, UV-VIS 8453, China).

Preparasi Media Kultur LB *broth* pH 7

Preparasi media kultur LB *broth* pH 7 dilakukan menurut metode yang dijelaskan oleh Wihansah *et al.* (2018) dengan sedikit modifikasi. Media LB *broth* sebanyak 2.5 gram ditambahkan dalam 100 ml aquades dan dilarutkan hingga homogen. Larutan selanjutnya diatur pH-nya menggunakan pH

meter elektronik dengan menambahkan NaOH hingga skala menunjukkan pH 7.

Sebelum digunakan, alat pH meter dibersihkan terlebih dahulu pada bagian katoda indikatornya, dengan dicuci menggunakan aquades kemudian dikeringkan dengan tissue. Alat pH meter selanjutnya dikalibrasi dengan larutan *buffer* pH 4 dan 7 dengan mencelupkan bagian ujung katodanya, selanjutnya ujung katoda dicelupkan dalam larutan media, setelah muncul kata “*ready*” angka yang muncul dicatat dan dibaca sebagai skala nilai pH larutan media. Larutan yang sudah diatur pH-nya selanjutnya didistribusikan ke dalam 8 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml menggunakan gelas ukur. Larutan selanjutnya ditambahkan glukosa dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 0, 5, 10, dan 20%, masing masing perlakuan terdiri dari dua tabung reaksi. Larutan yang sudah siap kemudian diberi label dan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Preparasi Media Kultur LB *broth* pH 12

Preparasi media kultur LB *broth* pH 12 dilakukan menurut metode yang dijelaskan oleh Wihansah *et al.* (2018) dengan sedikit modifikasi. Media LB *broth* sebanyak 2.5 gram ditambahkan dalam 100 ml aquades dan dilarutkan hingga homogen. Larutan selanjutnya diatur pH-nya menggunakan pH meter elektronik dengan menambahkan NaOH hingga skala menunjukkan pH 12. Sebelum digunakan, alat pH meter dibersihkan terlebih dahulu pada bagian katoda indikatornya, dengan dicuci menggunakan aquades kemudian dikeringkan dengan tissue. Alat pH meter selanjutnya dikalibrasi dengan larutan *buffer* pH 4 dan 7 dengan mencelupkan bagian ujung katodanya, selanjutnya ujung katoda dicelupkan dalam larutan media, setelah muncul kata “*ready*” angka yang muncul dicatat dan dibaca sebagai skala nilai pH larutan media. Larutan yang sudah diatur pH-nya selanjutnya didistribusikan ke dalam 8 tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml menggunakan gelas ukur. Larutan selanjutnya ditambahkan glukosa dengan

konsentrasi yang berbeda yaitu 0, 5, 10, dan 20%, masing masing perlakuan terdiri dari dua tabung reaksi. Larutan yang sudah siap kemudian diberi label dan disterilisasi menggunakan *autoclave* pada suhu 121 °C selama 15 menit.

Preparasi Pre-kultur Bakteri *E. coli*

Persiapan pre-kultur dilakukan berdasarkan metode yang dijelaskan oleh Sekse *et al.* (2012) dengan menumbuhkan isolat bakteri *E. coli* pada 10 ml media LB *broth* yang sudah disterilkan, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Kultur yang telah disegarkan kemudian diinokulasi sebanyak 2% ke dalam 10 ml media LB *broth* yang baru, selanjutnya diinkubasi kembali pada suhu 37 °C *overnigh* (12-16 jam). Kultur *E. coli* siap digunakan untuk analisis lebih lanjut.

Inokulasi Bakteri *E. coli* dan Pengamatan Optical Density (Metode Turbidimetri)

Proses inokulasi bakteri *E. coli* dilakukan secara aseptik dalam ruang laminar mengikuti prosedur yang telah dijelaskan oleh Sekse *et al.* (2012). Sebanyak 100 µl prekultur ditambahkan ke dalam tabung reaksi pada masing-masing perlakuan menggunakan mikropipet. Pencegahan kontaminasi dilakukan dengan melapisi bagian penutup tabung reaksi menggunakan plastik *wrap*. Kultur *E. coli* selanjutnya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37 °C selama 30 jam.

Pengamatan jumlah bakteri dilakukan berdasarkan tingkat kekeruhan kultur yang diamati secara spektrofotometris. Pengamatan ini dimulai pada jam ke-0 dan dilanjutkan setiap 3 jam berikutnya hingga jam ke-30. Masing-masing perlakuan diamati pertumbuhan jumlah bakterinya dengan memipet sebanyak 100 µl sampel dan dimasukkan ke dalam cuvet yang sebelumnya sudah disterilkan menggunakan etanol. Pengukuran *optical density* dilakukan pada panjang gelombang 600 nm. Data yang sudah diperoleh selanjutnya direkap ke dalam Ms. Excel untuk dianalisis.

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial. Faktor pertama adalah cekaman pH basa yaitu pH 7 dan pH 12, sedangkan faktor kedua adalah konsentrasi glukosa yaitu 0, 5, 10, dan 20%. Variabel yang diamati adalah jumlah bakteri. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan Microsoft Excel, dan ditampilkan dalam bentuk tabel dan grafik serta dianalisis secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis *optical density* (OD) bakteri *E. coli* dengan UV-vis spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm disajikan pada Tabel 1. Pada penelitian ini, *E. coli* ditumbuhkan pada media LB *broth* dengan pH 7 dan 12 dengan penambahan NaOH. Berdasarkan data tersebut, terlihat bahwa setiap perlakuan memiliki nilai absorbansi yang berbeda, perbedaan nilai absorbansi tersebut mengindikasikan perbedaan jumlah bakteri yang tumbuh.

Nilai absorbansi *E. coli* pada seluruh perlakuan (P0- P7) mengalami penurunan nilai absorbansi hingga jam ke-3 untuk media dengan pH 7 dan hingga jam ke-6 untuk

media dengan pH 12 (Tabel 1). Hal ini berarti bahwa terjadi penurunan jumlah bakteri pada tiga hingga enam jam awal pertumbuhan. Penurunan jumlah bakteri ini mungkin disebabkan karena *E. coli* sedang berada pada fase adaptasi. Fase adaptasi atau yang sering disebut *lag phase* merupakan fase ketika bakteri tidak aktif membelah namun sedang menyesuaikan diri dengan lingkungan barunya dalam upaya untuk bertahan hidup (Rolfe *et al.*, 2012).

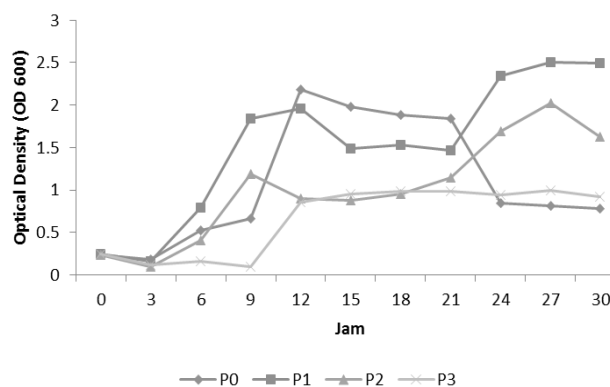
Tabel 1. menunjukkan adanya peningkatan nilai absorbansi yang lebih tinggi pada media dengan pH 7 dibandingkan dengan media pada pH 12, kemungkinan hal tersebut terjadi akibat stres lingkungan pada pH basa. Jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wihansah *et al.* (2018), pertumbuhan *E. coli* pada penelitian ini terlihat lebih baik, khususnya pada media dengan pH 7. Kondisi ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Kim *et al.* (2018), dimana beberapa jenis bakteri patogen seperti *B. cereus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* dan *Salmonella spp* yang ditumbuhkan pada media dengan pH yang berbeda (pH 5-10) menunjukkan tingkat pertumbuhan yang lebih rendah pada pH asam dari pada pH basa.

Tabel 1. Hasil pengamatan *optical density* bakteri *E. coli*

| Waktu (jam) | P0 | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 | P7 |
|-------------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 0 | 0,23 | 0,25 | 0,23 | 0,25 | 0,19 | 0,68 | 0,51 | 0,28 |
| 3 | 0,18 | 0,16 | 0,10 | 0,12 | 0,08 | 0,50 | 0,51 | 0,24 |
| 6 | 0,52 | 0,79 | 0,41 | 0,16 | 0,01 | 0,53 | 0,45 | 0,24 |
| 9 | 0,66 | 1,84 | 1,19 | 0,10 | 0,12 | 0,77 | 0,52 | 0,29 |
| 12 | 2,18 | 1,96 | 0,90 | 0,86 | 0,13 | 0,91 | 0,47 | 0,00 |
| 15 | 1,98 | 1,49 | 0,88 | 0,95 | 0,07 | 1,16 | 0,62 | 0,00 |
| 18 | 1,88 | 1,53 | 0,95 | 0,98 | 0,08 | 1,30 | 0,79 | 0,00 |
| 21 | 1,84 | 1,47 | 1,14 | 0,98 | 0,07 | 1,21 | 0,91 | 0,00 |
| 24 | 0,85 | 2,34 | 1,69 | 0,94 | 0,19 | 1,68 | 0,85 | 0,42 |
| 27 | 0,81 | 2,50 | 2,02 | 0,99 | 0,08 | 1,62 | 0,67 | 0,35 |
| 30 | 0,78 | 2,49 | 1,63 | 0,92 | 0,17 | 1,99 | 1,02 | 0,37 |

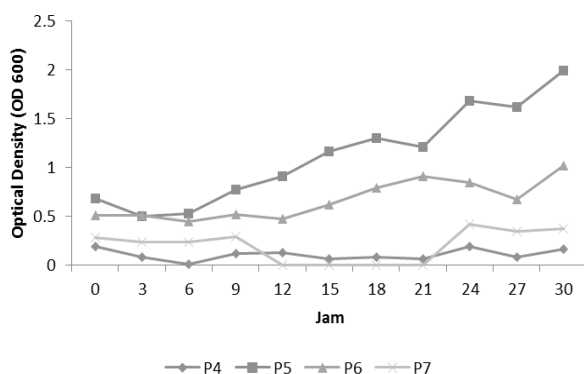
Keterangan: P0 = LB *Broth* pH 7 + 0% glukosa, P1 = LB *Broth* pH 7 + 5% glukosa, P2 = LB *Broth* pH 7 + 10% glukosa, P3 = LB *Broth* pH 7 + 20% glukosa, P4 = LB *Broth* pH 12 + 0% glukosa, P5 = LB *Broth* pH 12 + 5% glukosa, P6 = LB *Broth* pH 12 + 10% glukosa, P7 = LB *Broth* pH 12 + 20% glukosa.

Pemberian glukosa dengan beberapa level yang berbeda (0, 5, 10, dan 20 %) pada media dengan pH 7 dan 12, menunjukkan hubungan yang tidak linier. Pada penelitian ini, penambahan persentase glukosa yang semakin tinggi tidak diikuti oleh tingkat pertumbuhan *E. coli* yang baik. Hal tersebut berbeda dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wihansah *et al.* (2018), dimana semakin tinggi persentase glukosa yang diberikan, maka tingkat pertumbuhannya *E. coli* nya semakin baik. Secara umum, terlihat bahwa pada penambahan glukosa 5% baik pada pH 7 maupun pH 12 menunjukkan tingkat pertumbuhan *E. coli* yang lebih baik.



Keterangan: P0 = LB Broth pH 7 + 0% glukosa, P1 = LB Broth pH 7 + 5% glukosa, P2 = LB Broth pH 7 + 10% glukosa, P3 = LB Broth pH 7 + 20% glukosa.

Gambar 1. Grafik pertumbuhan bakteri *E. coli* pada pH 7



Keterangan: P4 = LB Broth pH 12 + 0% glukosa, P5 = LB Broth pH 12 + 5% glukosa, P6 = LB Broth pH 12 + 10% glukosa, P7 = LB Broth pH 12 + 20% glukosa.

Gambar 2. Grafik pertumbuhan bakteri *E. coli* pada pH 12

Grafik pertumbuhan bakteri *E. coli* yang ditumbuhkan pada media dengan pH 7 dan pH 12 disajikan pada Gambar 1 dan 2. Pada 3 jam awal inkubasi, *E. coli* yang ditumbuhkan pada media LB broth dengan pH 7 mengalami sedikit penurunan tingkat pertumbuhannya. Hal ini mengindikasikan 3 jam tersebut merupakan fase adaptasi (*lag phase*), kecuali pada perlakuan P3 yang memiliki fase adaptasi lebih lama hingga 9 jam. Pertumbuhan *E. coli* mengalami peningkatan yang tajam dimulai pada jam ke-3 hingga jam ke-12. Hal tersebut mengindikasikan *E. coli* sedang memasuki fase eksponensial (*log phase*). Pertumbuhan *E. coli* selama fase eksponensial pada P1 terlihat lebih tinggi dibandingkan dengan P0, hal tersebut disebabkan karena adanya penambahan glukosa sebanyak 5% sebagai sumber energi.

Bakteri *E. coli* yang ditumbuhkan pada media dengan pH 12, menunjukkan fase adaptasi yang lebih lama (Gambar 2) dibandingkan pada media dengan pH 7. Hal tersebut mengindikasikan bahwa penghambatan pertumbuhan *E. coli* dengan pengaturan pH media menjadi sangat basa (pH 12) memungkinkan *E. coli* untuk lebih lama dalam menghadapi agen stres. Beberapa penelitian telah melaporkan tentang bagaimana cara suatu mikroorganisme dapat beradaptasi dan bertahan hidup pada lingkungan dengan berbagai cekaman. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan mensintesis protein yang disebut sebagai *shock protein* (Ohtsuka *et al.*, 2007). Selain mensintesis protein, bakteri akan mengaktifkan pompa proton dalam mengatur *homeostasis* pH internal, ketika lingkungan eksternal bakteri tersebut menjadi asam (Maurer *et al.*, 2005).

Mekanisme adaptasi *E. coli* pada cekaman pH rendah dilakukan dengan cara mensintesis protein yang dikenal sebagai *acid shock proteins* (ASPs) dan aktivasi pompa proton dengan cara memompa proton keluar sel (Booth *et al.*, 2002; Maurer *et al.*, 2005). Pada penelitian yang dilakukan oleh Wihansah *et al.* (2018), peningkatan persentase glukosa yang diberikan akan

mengakibatkan tingkat pertumbuhan *E. coli* semakin baik. Hal tersebut dikarenakan glukosa berperan sebagai sumber energi untuk kinerja pompa proton. Pada penelitian ini, pemberian glukosa yang semakin tinggi, tidak mengakibatkan tingkat pertumbuhan *E. coli* yang semakin baik. Hal tersebut mengindikasikan mekanisme adaptasi *E. coli* pada pH basa tidak melibatkan pompa proton melainkan dengan sintesis protein. Meskipun demikian, ketidak terlibatan pompa proton dalam adaptasi pH basa masih harus diteliti lebih lanjut dari sisi molekuler.

Secara teori pompa proton secara spesifik mengatur lalu lintas ion H⁺ (asam) untuk menjaga pH internal sel. Sementara itu, lingkungan yang basa ditandai dengan tingginya ion hidroksil (OH⁻), bukan H⁺. Peranan pompa proton dalam menetralkan pH basa bisa dilakukan dengan mentransportasi ion H⁺ ke dalam sel dengan jumlah lebih banyak. Akan tetapi hal ini rupanya tidak terjadi pada *E. coli* dalam penelitian ini. Salah satu sebabnya mungkin adalah upaya sel mencegah terjadinya sel disrupsi akibat molekul air yang terlalu banyak di dalam strukturnya. Ketika pompa proton mengambil ion H⁺ yang terlalu banyak, ion ini akan bereaksi dengan ion hidroksil dan menghasilkan molekul air. Semakin banyak ion H⁺, semakin banyak pula molekul air yang terbentuk sehingga menimbulkan tekanan dalam sel yang jauh lebih tinggi (akibat konsentrasi air naik) dan bisa merusak dinding sel.

Atas dasar tersebut, mekanisme adaptasi pH basa oleh *E. coli* diduga bukan melibatkan (atau minimal) pompa proton, tetapi lebih ke arah sintesis protein-protein spesifik yang terlibat dalam cekaman pH basa. Yohannes *et al.* (2004) melaporkan bahwa setidaknya ada 19 jenis protein yang kadarnya meningkat saat cekaman pH tinggi, protein tersebut adalah jenis protein periplasmik, protein stres, dan enzim metabolisme. Lebih jauh dijelaskan bahwa enzim metabolisme ini akan merangsang peningkatan fermentasi menjadi asam, sehingga akan menetralkan alkali.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa media LB *broth* dengan pH yang tinggi (pH 12) dapat menyebabkan fase adaptasi (*lag phase*) *E. coli* yang lebih lama dari pada pH netral (pH 7). Selain itu, penambahan glukosa sebanyak 5% dapat memberikan performa terbaik untuk membantu pertumbuhan *E. coli*.

DAFTAR PUSTAKA

- Bleotu, C., M. C. Chifiriuc, D. Mircioagă, O. Săndulescu, I. M. Aldea, O. Banu, D. Ion, C. C. Diaconu, F. Marinescu, and V. Lazăr. 2017. The influence of nutrient culture media on *Escherichia coli* adhesion and biofilm formation ability. *Romanian Biotechnological Letters*. 22 (2): 12483-12491.
- Booth, I. R., P. Cash, and C. O. Byrne. 2002. Sensing and adapting to acid stress. *Anton von Leeuwenhoek*. 81: 33- 42.
- Costanzo, A. and S. E. Ades. 2006. Growth phase-dependent regulation of the extracytoplasmic stress factor, σ^E , guanosine 3',5'-bispyrophosphate (ppGpp). *J. Bacteriol*. 188: 4627-4634.
- Desnues, B., C. Cuny, G. Grégori, S. Dukan, H. Aguilaniu, and T. Nyström. 2003. Differential oxidative damage and expression of stress defense regulons in culturable and nonculturable *Escherichia coli* cells. *EMBO Rep*. 4: 400-404.
- Foster, J.W. and M. P. Spector. 1995. How *Salmonella* survives against the odds. *Annu Rev Microbiol*. 49: 145-174.
- Givskov, M., L. Eberl, S. Moller, L. K. Poulsen, and S. Molin. 1994. Responses to nutrient starvation in *Pseudomonas putida* KT2442: analysis of general cross-protection, cell shape, and macromolecular content. *J. Bacteriol*. 176: 7-14.
- Ishihama, A. 1999. Modulation of the nucleoid, the transcription apparatus, and the translation machinery in bacteria for

- stationary phase survival. *Genes Cells*. 4: 135-143.
- Kim, C., K. Wilkins, M. Bowers, C. Wynn, and E. Ndegwa. 2018. Influence of pH and temperature on growth characteristics of leading foodborne pathogens in a laboratory medium and select food beverages. *Austin Food Sci*. 3(1): 1031.
- Maurer, L. M., E. Yohannes, S. S. Bondurant, M. Radmacher, and J. L. Slonczewski. 2005. pH regulates genes for flagellar motility, catabolism, and oxidative stress in *Escherichia coli* K-12. *J. Bacteriol*. 187(1): 304-319.
- Murata, M., R. R. Noor, H. Nagamitsu, S. Tanaka, and M. Yamada. 2012. Novel pathway directed by r^E to cause cell lysis in *Escherichia coli*. *Genes to Cells*. 17: 234-247.
- Noor, R. R., Z. Islam, S. K. Munshi, and F. Rahman. 2013. Influence of temperature on *Escherichia coli* growth in different culture media. *J Pure Appl Microbio*. 7(2): 899-904.
- Ohtsuka, K., D. Kawashima, and M. Asai. 2007. Dual functions of heat shock proteins: molecular chaperones inside the cell and danger signals outside of cells. *Thermal Med*. 23:11-22.
- Rolfe, M. D., C. J. Rice, S. Lucchini, C. Pin, A. Thompson, A. D. S. Cameron, M. Alston, M. F. Stringer, R. P. Betts, J. Baranyi, M. W. Peck, and C. J. D. Hinton. 2012. Lag phase is a distinct growth phase that prepares bacteria for exponential growth and involves transient metal accumulation. *Journal of Bacteriology*. 194(3): 686-701.
- Sekse, C., J. Bohlin, E. Skjerve, and G. E. Vegarud. 2012. Growth comparison of several *Escherichia coli* strains exposed to various concentrations of lactoferrin using linear spline regression. *Microb. Inform. Exp*. 2 (5): 1-12.
- Wihansah, R. R. S., M. Yusuf, M. Arifin, A. Y. Oktaviana, Rifkhan, J. K. Negara, and A. K. Sio. 2018. Pengaruh pemberian glukosa yang berbeda terhadap adaptasi *Escherichia coli* pada cekaman lingkungan asam. *JSPI*. 13 (1): 29-35.
- Yohannes, E., D. M. Barnhart, and J. L. Slonczewski. 2004. pH-dependent catabolic protein expression during anaerobic growth of *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology*. 186(1): 192-199.