

Pengaruh Tipe Media Pertumbuhan *Rhodobacter sp* Terhadap Produksi Bakteriorhodopsin

Eni Lestari

Fakultas Biologi Universitas Nasional

Email : enilestari007@yahoo.com

Paper submit : 20 Oktober 2020, Paper publish: Maret 2021

Abstrak- *Rhodobacter sp* merupakan bakteri ungu non sulfur. Bakteri ini menghasilkan pigmen dalam pertumbuhan secara fotoautotrof. Salah satu pigmen yang dihasilkan adalah Rhodopsin. Rhodopsin merupakan salah satu pigmen penangkap cahaya bagi bakteri ini. Penelitian ini bertujuan untuk melihat intensitas warna pigmen bakteriorhodopsin secara spektrofotometri yang dihasilkan bakteri ini dalam 2 tipe medium yang berbeda, dengan waktu inkubasi selama 4 hari menggunakan lampu pijar dengan lux 2000. Tipe medium pertumbuhan yang diuji adalah Sea water medium dan Sea water complete medium. Metode penelitian ada uji kualitatif intensitas warna pigmen bakteriorhodopsin berdasarkan nilai absorbansi pada panjang gelombang 530 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil dari penelitian ini adalah nilai absorbansi rata-rata pada pigmen bakteriorhodopsin yang dihasilkan dari 2 tipe medium pertumbuhan yakni pada Sea water medium didapatkan nilai absorbansi bakteriorhodopsin adalah 0,067, sedangkan pada Sea water complete medium didapatkan nilai absorbansi bakteriorhodopsin adalah 0,211. Kesimpulan pada penelitian adalah terdapat perbedaan produksi pigmen *Rhodobacter* dengan 2 tipe medium pertumbuhan serta medium yang paling baik menghasilkan pigmen bakteriorhodopsin adalah Sea Water Complete Medium.

Kata kunci: *Rhodobacter sp*, bakteriorhodopsin, spektrofotometer, Sea water Medium, Sea water complete medium

PENDAHULUAN

Rhodobacter sp merupakan bakteri ini berbentuk oval atau batang, motil dari polar flagel atau non motil, membagi sel dari pembelahan biner atau tunas, dapat memproduksi kapsul dan lendir, dapat membentuk rantai sel, gram negatif, termasuk ke dalam *Alphaproteobacteria*. Bagian sel yang tumbuh secara fototropik adalah vesicular atau membran pipih internal fotosintetik (Krieg et al. 1984). Bakteri ini juga termasuk ke dalam Bakteri Non-Sulphur Ungu merupakan kelompok organisme serbaguna di mana sebagian besar dapat tumbuh sebagai fotoheterotrof, fotoautotrof atau kemoautotrof, dapat beralih dari satu mode ke mode lain pertumbuhan tergantung pada kondisi yang tersedia, tingkat anaerobik, ketersediaan karbon sumber (CO₂ untuk pertumbuhan autotrofik, senyawa organik untuk pertumbuhan heterotrofik), dan ketersediaan cahaya yang diperlukan untuk pertumbuhan fototrofik (Staley et al. 1994). Habitat bakteri ini terdapat pada lingkungan air tawar maupun air laut (Srinivas et al. 2007). Inkubasi bakteri ini menggunakan lampu pijar dengan lux 2000 (Brand et al. 1995).

Pada penelitian lain menyatakan produksi gas hidrogen ditingkatkan empat hingga enam

kali lipat dengan penambahan bakteriorhodopsin. Dengan melalui proses pengadukan meningkatkan total gas yang diproduksi dan meningkatkan laju produksi hidrogen. Efisiensi konversi energi cahaya meningkat dari 0,6% menjadi 2,25% dalam sistem gabungan (Zabut et al. 2006). Penggunaan media pertumbuhan yang menghasilkan pigmen bakteriorhodopsin secara optimal tentu diperlukan melihat fungsi dari pigmen ini yang amat penting sebagai penangkap cahaya.

Penelitian mengenai tipe media pertumbuhan yang tepat untuk bakteri belum banyak dilakukan dan ini menjadi alasan dilakukannya penelitian ini. Hasil dari penelitian ini dapat menjadi rujukan untuk peneliti lain dalam memilih media untuk pertumbuhan bakteri sekaligus menghasilkan pigmen bakteriorhodopsin yang optimal. Media pertumbuhan pada penelitian adalah Sea water complete dan Sea water medium, penggunaan 2 tipe media ini karena kultur bakteri *Rhodobacter sp* yang digunakan merupakan hasil isolasi dari air laut dan telah dimurnikan.

Tujuan penelitian ini untuk melihat untuk melihat intensitas warna pigmen bakteriorhodopsin secara spektrofotometri yang dihasilkan bakteri ini dalam 2 tipe medium yang berbeda, dengan waktu

inkubasi selama 4 hari menggunakan lampu pijar dengan lux 2000. Pigmen diekstraksi menggunakan etanol absolut.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium PT Nugen Bioscience Indonesia. penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang pengerjaannya dilakukan dalam beberapa tahap.

1. Subjek Penelitian

Kultur bakteri Kultur bakteri *Rhodobacter* sp yang diuji merupakan isolat murni dari PT Nugen Bioscience Indonesia.

2. Metode dan Desain Penelitian

a. Persiapan kultur Rhodobacter

Media nutrient broth ditimbang sebanyak 0,8 gram dan tambahkan NaCl 2 gram, lalu masukkan ke dalam botol schott 250 ml. Aquadest ditambahkan ke dalam media yang sudah ditimbang. pH media diukur antara 6,6 sampai 7,0. Medium diaduk

hingga homogen. Sterilisasi media tersebut menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian dinginkan media hingga suhu 37°C. Cryo kultur *Rhodobacter* diinokulasikan ke dalam media nutrient broth + NaCl 2%. Medium yang sudah ditambahkan kultur diinkubasi dengan lampu pijar 60 watt lux 2000 selama 4 hari.

b. Inokulasi bakteri

Masing-masing tipe media pertumbuhan dibuat sesuai komposisi kemudian dilarutkan dengan aquadest. Setelah itu aduk hingga homogen. pH media diukur kisaran 7,0 sampai 7,5. Dipipet dari masing-masing medium sebanyak 9 ml kedalam tabung reaksi tertutup. Sterilisasi medium tersebut kedalam autoklaf selama 15 menit suhu 121°C tekanan 1 atm. Media didinginkan media hingga suhu 37°C, lalu kultur bakteri diinokulasi ke dalam media sebanyak 1 ml. Media yang sudah ditambahkan kultur bakteri diinkubasi dengan lampu pijar 60 watt lux 2000 selama 4 hari.

Tabel 1. Komposisi tipe media pertumbuhan bakteri

Media Tipe A		Jumlah
Bacto pepton	5 gram	
Yeast extract	1 gram	
Gliserol	3 ml	
Sea water	750 ml	
Aquadest	250 ml	
Media Tipe B		Jumlah
Beef extract	10 gram	
Bacto Pepton	10 gram	
Sea water	750 ml	
Aquadest	250 ml	

c. Metode Ekstraksi bakteriorhodopsin

Bakteri fototropik yang sudah ditanam dalam medium pertumbuhan dengan menggunakan penyinaran lampu lux 2000 dan cairan disentrifugasi pada 8000 rpm untuk 15 menit. Pelet sel dipisahkan & etanol ditambahkan diikuti oleh sentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10 menit. Sisa-sisa sel dipisahkan dan etanol ditambahkan lagi dan disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 10

menit. Pengukuran absorbansi bakteriorhodopsin dengan menggunakan spektrofotometer. Absorbansi dibaca pada 530 nm kisaran di mana rhodopsin menyerap secara maksimal.

3. Teknik Pengumpulan Data

Data absorbansi dari masing-masing tipe media dikumpulkan dan dibuat nilai rata-rata absorbansi.

Tabel 2. Absorbansi bakteriorhodopsin dengan media Sea water Complete (Media Tipe A)

Kode sampel	Absorbansi
1	0,215
2	0,247
3	0,277
4	0,265
5	0,188
6	0,152
7	0,155
8	0,179
9	0,239
10	0,190

Hasil rata-rata absorbansi adalah 0,211

Tabel 3. Absorbansi bakteriorhodopsin dengan media Sea water medium (Media Tipe B)

Kode sampel	Absorbansi
1	0,110
2	0,046
3	0,047
4	0,050
5	0,062
6	0,070
7	0,070
8	0,094
9	0,030
10	0,083

Hasil rata-rata absorbansi adalah 0,067

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran menggunakan spektrofotometer didapatkan hasil bahwa tipe media A (Sea water Complete medium) menghasilkan absorbansi bakteriorhodopsin lebih tinggi dibandingkan dengan media B (Sea water Medium). Perbedaan komposisi masing media ternyata menentukan kandungan pigmen yang dihasilkan. Yeast extract sebagai faktor pertumbuhan bakteri dan Gliserol sebagai sumber karbon merupakan komponen penting dalam produksi bakteriorhodopsin sebagai hasil pertumbuhan bakteri, selain pepton sebagai sumber nitrogen (Srinivas et al. 2007). Sedangkan kandungan beef extract tidak menghasilkan bakteriorhodopsin secara

optimal. Kandungan terkait pigmen bakteriorhodopsin yang berbeda akan berpengaruh terhadap kemampuan bakteri dalam menangkap sinar yang nantinya akan digunakan sebagai energi sel dan melepaskan gas hidrogen dalam akhir prosesnya. Hal itu menjadi pertimbangan dalam menentukan penggunaan media yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri sekaligus menghasilkan bakteriorhodopsin yang optimal.

SIMPULAN

Ada perbedaan produksi pigmen *Rhodobacter sp* dengan 2 tipe medium pertumbuhan serta medium yang paling baik menghasilkan pigmen bakteriorhodopsin adalah Sea Water Complete Medium.

DAFTAR PUSTAKA

- Brand, M., Garcia, A. F., Pucheu, N., Meryandini, A., Kerber, N., Tadros, M. H., & Drews, G. (1995). *Phosphorylation of the light-harvesting polypeptide LH1 α of Rhodobacter capsulatus at serine after membrane insertion under chemotrophic and phototrophic growth conditions*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1231(2), 169-175.
- DSMZ.de. (2008). Sea Water Agar. Diakses pada 26 Juni 2019, dari https://www.dsmz.de/microorganisms/medium/pdf/DSMZ_Medium246.pdf.

- Garimella, S., Parine, N. R., Mittapelli, V., & Merugu, R. (2019). *Hydrogen Production from Hup-Rhodobacter sphaeroides Isolated from Sewage Water*, Nalgonda, Telangana State of India. National Academy Science Letters, 1-3.
- Kamble, K., & Wadule, G. (2014). *Journal of Pure and Applied Bioscience*. Int. J. Pure App. Biosci, 2(6), 201-208.
- Krieg, N. R., & Holt, J. G. (1984). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (No. BOOK). Yi Hsien Publishing Co..
- Merugu, R., Girisham, S., & Reddy, S. M. (2010). *Bioproduction of hydrogen by Rhodobacter capsulatus KU002 isolated from leather industry effluents*. International Journal of Hydrogen Energy, 35(18), 9591-9597.
- Srinivas, T. N. R., Kumar, P. A., Sasikala, C., Ramana, C. V., & Imhoff, J. F. (2007). *Rhodobacter vinaykumarii sp. nov., a marine phototrophic alphaproteobacterium from tidal waters, and emended description of the genus Rhodobacter*. International journal of systematic and evolutionary microbiology, 57(9), 1984-1987.
- Staley, J. T., Byrant, M. P., Pfennig, N., & Holt, J. C. (1994). *Enrichment and isolation of purple non sulphur photosynthetic bacteria*.
- Zabut, B., El-Kahlout, K., Yücel, M., Gündüz, U., Türker, L., & Eroğlu, İ. (2006). *Hydrogen gas production by combined systems of Rhodobacter sphaeroides OU 001 and Halobacterium salinarum in a photobioreactor*. International Journal of Hydrogen Energy, 31(11), 1553-1562.
- Zein, A., Nurhayati, D., Rahmatia, F., Cahyati, T. N., Hidayatullah, D., Afrilasari, W., & Christyaningsih, N.(2012). *Seleksi Bakteri Probiotik Untuk Akuakultur. Laporan Praktikum*,90.