

ISOLASI BAKTERI FOTOSINTETIK ANOKSIGENIK DARI ESTUARIN DAERAH KARAWANG, SERANG, DAN SUKABUMI

Iman Rusmana*, Tri Widiyanto dan M. Badjoeri****

*Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, FMIPA, IPB, Bogor

**Puslitbang Limnologi, LIPI, Cibinong

ABSTRAK

Bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) dapat ditemukan hidup di lingkungan perairan baik di air tawar maupun di air laut. BFA mempunyai pigmen fotosintetik yang sangat khas dengan pola spektra absorpsi yang khas pula. Oleh karena itu pola spektra dari pigmen ini sering dijadikan dasar untuk identifikasi.

Sebanyak 27 isolat BFA berhasil diisolasi dari estuarin di daerah Serang, Sukabumi, dan Kerawang. Semua isolat BFA tersebut bersifat anaerobik fakultatif, gram negatif, dan selnya berbentuk batang. Berdasarkan sifat-sifat diatas dapat dipastikan bahwa isolat-isolat BFA tersebut termasuk kelompok Rhodospirillaceae (bakteri ungu nonsulfur).

PENDAHULUAN

Bakteri fotosintetik anoksigenik (BFA) adalah bakteri yang mampu melakukan proses fotosintesis dengan donor elektron selain H_2O , sehingga dalam proses fotosintesisnya tidak dihasilkan oksigen. Piranti fotosintetik yang dimiliki oleh BFA antara lain terdiri dari Bakterioklorofil dan Karotenoid. Piranti ini fungsinya mirip seperti klorofil pada algae dan tumbuhan tingkat tinggi.

BFA dapat ditemukan hidup di lingkungan perairan baik di air tawar maupun di air laut. Dilingkungannya bakteri ini mempunyai peranan ekologi yang penting karena kemampuannya melakukan proses fotosintesis sehingga menduduki posisi sebagai produsen primer (Fuhrman, *et. al.* 1993).

Menurut Pfennig dan Truper (1989), yang termasuk BFA adalah bakteri ungu dan bakteri hijau. Bakteri ungu terdiri dari tiga famili yaitu Chromatiaceae (bakteri ungu sulfur), Ectothiorhodospiraceae, dan Rhodospirillaceae (bakteri ungu nonsulfur). Sedangkan bakteri hijau terdiri dari dua famili yaitu Chlorobiaceae (bakteri hijau sulfur) dan Chloroflexaceae (bakteri hijau berfilamen multiseluler).

Salah satu kelompok bakteri fotosintetik anoksigenik adalah bakteri ungu non-sulfur. Kelompok bakteri ini mempunyai sistem metabolisme yang beragam seperti

respirasi aerobik, fotoheterotrof dan autotrof pada kondisi anaerobik, dan respirasi anoksigenik. Selain itu bakteri ungu non-sulfur ini juga merupakan bakteri penambat N_2 yang hidup bebas (Roberts dan Ludden, 1992).

Indonesia yang merupakan negara kepulauan yang seluruh wilayahnya dikelilingi laut merupakan daerah yang sangat potensial untuk memperoleh berbagai macam isolat BFA asal wilayah estuarin. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi BFA dari perairan estuarin dan perairan budidaya tambak udang.

BAHAN DAN METODE

Sumber bahan untuk isolasi yang diambil pada setiap lokasi dapat berupa air laut, pasir laut, air muara, tanah muara, air tambak, atau tanah/lumpur tambak. Lokasi yang diambil contohnya adalah seperti yang tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Tempat Pengambilan Contoh dan Jumlah Contoh yang Diisolasi.

NO	Kabupaten	Daerah
1	Serang	Anyer dan Kasemen
2	Sukabumi	Pelabuhan Ratu
3	Karawang	Sungai Buntu

Sebanyak kurang lebih satu gram tanah/air dimasukkan ke dalam medium SWC (*Sea Water Complete*) 50 % di dalam tabung reaksi bertutup ulir. Komposisi medium SWC 50 % adalah pepton 2,5 g/l, Ekstrak Khamir 0,5 g/l, gliserol 1,5 ml/l, air laut 750 ml/l dan akuades 250 ml/l. Inkubasi dilakukan di depan cahaya lampu tungsten 40 Watt dengan jarak kurang lebih 30 cm, kemudian pertumbuhan dan warna kultur diamati setelah masa inkubasi tujuh hari.

Satu jarum inokulasi kultur pada setiap tabung digores secara kuadran pada medium agar cawan SWC 100 % . Cawan cawan tersebut diinkubasi di dalam anaerobik jar tembus cahaya di depan cahaya lampu tungsten seperti sebelumnya.

Koloni yang tumbuh terpisah dimurnikan kembali pada medium agar cawan SWC 100 % dan diinkubasikan di dalam anaerobik jar dengan cara yang sama seperti sebelumnya. Apabila belum diperoleh koloni/isolat yang murni, tahap ini diulangi.

sampai diperoleh isolat BFA yang murni. Isolat-isolat hasil isolasi diamati morfologi sel dan reaksi gramnya menggunakan mikroskop cahaya (1000 X).

Isolat BFA yang sudah murni ditumbuhkan dalam medium cair SWC 100 % di dalam tabung reaksi bertutup ulir dan diinkubasikan di depan cahaya lampu tungsten. Pertumbuhan dan warna kultur diamati setelah masa inkubasi lima sampai tujuh hari.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode yang digunakan untuk isolasi pada penelitian ini pada dasarnya adalah merupakan metode pengkayaan. Pada metode ini, contoh sumber isolat diinokulasikan pada medium selektif dan inkubasikan dengan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan BFA, tetapi kurang baik atau bahkan menghambat pertumbuhan bakteri lainnya. Setelah masa inkubasi, populasi BFA pada medium pengkayaan tersebut menjadi lebih tinggi/dominan, sehingga isolat-isolat BFA tersebut dapat diisolasi dengan relatif mudah.

Medium pengkayaan yang digunakan adalah SWC 50 % dengan kondisi inkubasi anaerobik fototrof. Pertumbuhan BFA pada Kondisi demikian sangat baik, sedangkan bakteri lainnya terhambat. Populasi yang tinggi dari BFA terlihat dari warna biakan yang menjadi kuning-kemerahan sampai merah.

Dari beberapa contoh yang terkumpul, diperoleh sebanyak 27 isolat BFA. Sifat isolat, asal daerah dan asal jenis contoh dari ke-27 isolat BFA tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

Menurut Pfennig dan Truper (1989), yang termasuk BFA adalah bakteri ungu dan bakteri hijau. Bakteri ungu terdiri dari tiga famili yaitu Chromatiaceae (bakteri ungu sulfur), Ectothiorhodospiraceae, dan Rhodospirillaceae (bakteri ungu nonsulfur). Sedangkan bakteri hijau terdiri dari dua famili yaitu Chlorobiaceae (bakteri hijau sulfur) dan Chloroflexaceae (bakteri hijau berfilamen multiseluler).

Chromatiaceae, Ectothiorhodospiraceae, Chlorobiaceae dan Chloroflexaceae bersifat anaerobik obligat (Pfennig dan Truper, 1989; Brock dan Madigan, 1991). Karena semua isolat BFA hasil isolasi bersifat anaerobik fakultatif maka hampir dapat dipastikan bahwa semua isolat BFA hasil isolasi tersebut termasuk kelompok Rhodospirillaceae (bakteri ungu nonsulfur). Dugaan ini juga diperkuat dari hasil

pengamatan pewarnaan Gram dan morfologi selnya. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa ke-27 isolat hasil isolasi semuanya bentuk batang dan bersifat gram negatif (Tabel 3). Hal ini sesuai seperti yang dilaporkan oleh Pfennig dan Truper (1989) bahwa bakteri ungu nonsulfur bersifat gram negatif dengan bentuk sel bulat, oval, batang atau spiral.

Tabel 2. Daftar Isolat Hasil Isolasi dan Sumbernya.

No	Sandi Isolat	Daerah Pengambilan Contoh	Jenis Contoh
1	IR1	Anyer, Serang	Air
2	IR2	Anyer, Serang	Air
3	IR3	Anyer, Serang	sedimen
4	IR4	Kasemen, Serang	sedimen
5	IR5	Anyer, Serang	AirMuara
6	IR7	Anyer, Serang	TanahMuara
7	IR8	Anyer, Serang	TanahMuara
8	IR9	Kasemen, Serang	sedimen
9	IR10	Kasemen, Serang	Tanah Muara
10	IR11	Anyer, Serang	sedimen
11	IR12	Pelabuhan Ratu, Sukabumi	sedimen
12	IR13	Pelabuhan Ratu, Sukabumi	sedimen
13	IR14	Pelabuhan Ratu, Sukabumi	Air
14	IR16	Pelabuhan Ratu, Sukabumi	Air
15	IR17	Pelabuhan Ratu, Sukabumi	Air
16	IR18	Pelabuhan Ratu, Sukabumi	sedimen
17	IR19	Pelabuhan Ratu, Sukabumi	Air
18	RUS11	Sungai Buntu, Kerawang	Air
19	RUS12	Sungai Buntu, Kerawang	Air
20	RUS13	Sungai Buntu, Kerawang	Air
21	RUS21	Sungai Buntu, Kerawang	Air
22	RUS22	Sungai Buntu, Kerawang	AirMuara
23	RUS23	Sungai Buntu, Kerawang	AirMuara
24	RUS24	Sungai Buntu, Kerawang	AirMuara
25	RUS31	Sungai Buntu, Kerawang	Air
26	RUS32	Sungai Buntu, Kerawang	Air
27	RUS33	Sungai Buntu, Kerawang	Air

Warna biakan dalam medium SWC 100 % yang ditumbuhkan secara fotoheterotrof anaerobik bervariasi. Ada yang berwarna merah, merah kecoklatan, merah kekuningan, dan coklat kekuningan (Tabel 3). Warna biakan ini disebabkan adanya bakterioklorofil dan karotenoid yang merupakan bagian dari piranti fotosintetik BFA tersebut. Pigmen fotosintetik ini sangat khas untuk tiap jenis BFA, sehingga dapat digunakan sebagai dasar untuk identifikasi (Fuhrman, *et. al.*, 1993). Warna biakan ini banyak dipengaruhi oleh jenis karotenoid yang dikandungnya.

Beberapa jenis karotenoid dan kemungkinan warna organismenya dapat dilihat pada Tabel 4 (Brock dan Madigan, 1991).

Tabel 3. Warna Biakan Dalam Medium SWC, Bentuk Sel, dan Reaksi Gram dari Isolat Isolat Hasil Isolasi.

No	Sandi Isolat	Warna Biakan	Bentuk Sel	Reaksi Gram
1	IR1	Merah Kecoklatan	Batang	Negatif
2	IR2	Coklat Kekuningan	Batang	Negatif
3	IR3	Merah Kekuningan	Batang	Negatif
4	IR4	Merah Kecoklatan	Batang	Negatif
5	IR5	Merah Kecoklatan	Batang	Negatif
6	IR7	Merah	Batang	Negatif
7	IR8	Merah Kekuningan	Batang	Negatif
8	IR9	Merah Kecoklatan	Batang	Negatif
9	IR10	Merah Kekuningan	Batang	Negatif
10	IR11	Merah Kecoklatan	Batang	Negatif
11	IR12	Merah	Batang	Negatif
12	IR13	Merah	Batang	Negatif
13	IR14	Merah	Batang	Negatif
14	IR16	Merah	Batang	Negatif
15	IR17	Merah	Batang	Negatif
16	IR18	Merah	Batang	Negatif
17	IR19	Merah kekuningan	Batang	Negatif
18	RUS11	Merah	Batang	Negatif
19	RUS12	Merah Kekuningan	Batang	Negatif
20	RUS13	Merah Kekuningan	Batang	Negatif
21	RUS21	Merah	Batang	Negatif
22	RUS22	Merah	Batang	Negatif
23	RUS23	Merah	Batang	Negatif
24	RUS24	Merah	Batang	Negatif
25	RUS31	Merah	Batang	Negatif
26	RUS32	Merah	Batang	Negatif
27	RUS33	Merah	Batang	Negatif

Tabel 4. Jenis Jenis Karotenoid Utama pada Bakteri Fototrof dan Warna Organisme (Brock dan Madigan, 1991).

Grup	Jenis Karotenoid	Warna Organisme
1	Lycopen, rhodopin, spirilloxanthin, neurosporene	Jingga-coklat, merah kecoklatan, merah muda, ungu merah, hijau
2	Sferoiden, hidroksidferoiden, sferoidenon, hidroksisferoidenon, spirilloxanthin	Merah (aerobik) merah kecoklatan sampai ungu (anaerobik)
3	Okenon, methoxylated keto carotenoid	Ungu-merah
4	Lycopenal, lycopenol, rhodopin, rhodopinal, rhodopinol	Ungu- Jingga
5	Klorobakten, hidroksiklorobakten, Beta-isorenieratene, isorenieratene	Hijau (klorobakten) Coklat (isorenieratene)
6	Beta-Caroten, -Caroten	Jingga - hijau

KESIMPULAN

Sebanyak 27 isolat BFA berhasil diisolasi dari pesisir di daerah Serang, Sukabumi, dan Kerawang. Semua isolat BFA tersebut bersifat anaerobik fakultatif, gram negatif, dan selnya berbentuk batang. Berdasarkan sifat-sifat diatas dapat dipastikan bahwa isolat-isolat BFA tersebut termasuk kelompok Rhodospirillaceae (bakteri ungu nonsulfur).

DAFTAR PUSTAKA

- Brock, T.D. and M.T. Madigan. 1991. *Biology of Microorganisms*. Prentice Hall. New Jersey.
- Fuhrman, J.A., K. Mc Callum, and A.A. Davis. 1993. Phylogenetic diversity of surface marine microbial communities from the Atlantic and Pacific oceans. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:1294-1302

- Lee, J.K. and S. Kaplan. 1992. Molecular genetic of elements involve in oxygen and light control of *puc* operon transcription in *Rhodobacter sphaeroides*. J. Bacteriol. 174:1505-1514.
- Pfennig, N. and H.G. Truper. 1989. Anoxygenic phototrophic bacteria. In J.T. Staley, M.P. Bryant, N. Pfennig, and J.G. Holt. Eds. Bergeys Manual of Systematic Bacteriology. William and Wilkins. Baltimore.
- Robert, G.P. and P.W. Ludden. 1992. Nitrogen fixation by photosynthetic bacteria. In G. Stacey, R.H. Burris, and H.J. Evans. Eds. Biological Nitrogen Fixation. Chapman and Hall Inc. USA. P. 135-165.
- Zuber, H. 1986. Structure of light-harvesting antenna complexes of photosynthetic bacteria, cyanobacteria, and red algae. TIBS. 11:414-419.