

KEMAMPUAN LIPOPOLISAKARIDA *BRADYRHIZOBIUM JAPONICUM* DALAM MENGAKUMULASI LOGAM BERAT

Tedja Imas¹⁾, Purwantiningsih²⁾, Murtini, S.³⁾, Susilowati, D⁴⁾

Bradyrhizobium japonicum yang mendapat paparan logam Cu, Zn, Ni, Pb dan Cd dalam media pertumbuhannya dapat mengakumulasi logam dengan bantuan komponen lipopolisakarida (LPS) yang mempunyai muatan negatif dan letaknya menonjol keluar permukaan sel serta bersinggungan dengan lingkungan luar. Untuk memahami peran dan fungsi LPS maka penelitian ini bertujuan untuk mempelajari profil LPS dengan analisis SDS-PAGE, analisis kimia dan imunokimia serta perubahan epitop LPS sebagai akibat perubahan pH, konsentrasi fosfat dan oksigen. Selanjutnya pengukuran kemampuan pengikatan logam dilakukan dengan spektrofotometri serapan atom atau AAS dengan memanfaatkan kontrol selular dan kontrol aselular sebagai pembanding..

Isolasi dan ekstraksi LPS dilakukan dengan metode Darveau-Hancock, Venkatesh-Prendergast atau ekstraksi mini-fenol dan kit iNtRON. Metode Venkatesh-Prendergast yang dimodifikasi tampak lebih baik karena tidak terkontaminasi protein (0.42-0.02%) dan LPS terekstraksi baik dalam fase air maupun fase fenol. Deteksi LPS dari SDS-PAGE dilakukan dengan memanfaatkan *low molecular weight* atau *low range molecular weight marker*, pewarna Coomassie blue dan pewarna perak-alkalin. Semua galur uji BDG 10, KDR 10 dan 15 serta KTB 19 menampakkan himpunan 2-3 pita dekat bawah gel yang menunjukkan adanya bentuk LPS II yang tidak memiliki antigen-O dengan mobilitas molekul yang tinggi. Pita sebelah bawah menunjukkan molekul berada sekitar 14.300 Da dan yang sebelah atas berada di bawah 18.400 Da. Bentuk LPS I juga dijumpai dengan molekul bermobilitas rendah sekitar 48.500 – 66 000 Da. Dengan bentuk LPS I dan II, struktur LPS galur uji termasuk tipe *smooth* yang menyatakan kehadiran komponen LPS yaitu antigen-O, polisakarida inti dan lipid A meskipun dengan profil LPS yang beragam diantara semua galur uji. Penyebaran pita pada LPS fase air menunjukkan kemiripan dengan penyebaran pita pada fase fenol

Analisis polisakarida LPS fase air diantara galur uji dengan bantuan HPLC menunjukkan keragaman baik tanpa maupun dengan hidrolisis asam asetat 1%. Polisakarida LPS KTB 19 dominan untuk glukosamin, sukrosa dan glukosa pada kedua perlakuan tersebut. Asam KDO atau 3-deoksi-D-mannooktulosonat yang merupakan ciri khas LPS dijumpai dengan nilai terbesar pada BDG 10 diikuti KDR 15 masing-masing 19.57 dan 19.35 ppm dari LPS fase air dengan hidrolisis asam asetat 1%. Asam lemak yang terdeteksi dengan bantuan GC menunjukkan asam C16:0 dan C18:1 dijumpai pada semua galur uji selain itu pada KTB 19 dijumpai juga C12:0, C18:3 dan C20:0 sebagai komponen lipid A.

¹⁾Staf Pengajar Dep. Biologi, FMIPA IPB, ²⁾ Staf Pengajar Dep. Kimia, FMIPA IPB, ³⁾ Staf Pengajar Dep. Kirtwan Kesmavet, FKJH IPB, ⁴⁾BALITBIO

Pemaparan logam dalam waktu 15 menit, pada pH 5.6 dan suhu 20°C menunjukkan jumlah pengikatan logam yang bervariasi untuk setiap galur dengan afinitas terhadap logam juga bervariasi. Umumnya galur uji menunjukkan afinitas yang relatif sama baik dalam jumlah maupun jenis logam yang fungsional seperti Cu (0.055-0.1 ppm), Zn (0.285-0.36 ppm) dan Ni (0.16-0.19 ppm) sedangkan untuk Pb (0.13-0.32 ppm) dan Cd (0.005-0.060 ppm) yang tergolong logam nonfungsional dengan afinitas yang rendah kecuali untuk KDR 10 terhadap Pb.

Kemampuan akumulasi logam terkait dengan kandungan fosfat LPS dengan urutan sebagai berikut BDG 10>KDR 15>KDR 10>KTB 19 yang berkisar antara 2.132-0.409 % b/b LPS basah. Selain gugus fosforil maka gugus hidroksil dan karboksil menentukan kemampuan LPS galur uji untuk mengakumulasi logam terutama logam berat. Kemampuan galur uji sebagai agen bioremediasi masih memerlukan pengkajian lebih lanjut.