

Pembiakan dan ekstraksi lipid Arkaea Thermoasidofil yang diisolasi dari Tangkuban Perahu = Culturing Thermoacidophilic Archaea isolated from Tangkuban Perahu and extracting total membrane lipid

Andi, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20345293&lokasi=lokal>

Abstrak

Dalam penelitian ini, arkaea termoasidofil diisolasi dari sumber mata air panas bersulfur di Kawah Domas, Tangkuban Perahu. Isolat KD1 sampai KD3 diambil dengan kondisi pH 2 dan temperatur antara 52 dan 57 oC. Kultur diatur untuk mendukung pembiakan Thermoplasma dikarenakan dalam habitat alami tersebut terdapat beberapa mikroorganisme ekstremofilik lainnya (spesies Sulfolobus, Bacillus acidocaldarius) sehingga mikroorganisme lainnya terseleksi. Thermoplasma dari alam yang terdapat di Kawah Domas bertumbuh dengan kondisi anaerob-otorof dengan bantuan elemental sulfur, namun di dalam laboratorium Thermoplasma ini mampu bertumbuh secara mikroareofil-heterotrof di dalam kultur yang ditambahkan glukosa dan yeast extract Difco dengan keasaman diatur menggunakan asam sulfat. Kondisi pembiakan laboratorium tadi diatur pada temperatur 55 ± 2 oC and pH 1.5-2 di dalam medium Freundt melalui serial transfer sampai beberapa generasi agar terpilih spesies Thermoplasma. Mikroaerasi diatur dengan menggunakan kanula jarum suntik yang ditancapkan pada tutup botol kultur. Sebelum pengkulturan, medium dan komponen tambahan tersebut dibagi ke dalam botol dengan volume 300 mL dan disterilisasi pada 121 oC di dalam autoclave. Laju pertumbuhan kultur dipantau menggunakan spektrofotometer melalui nilai densitas optisnya pada panjang gelombang 578 nm dan kondisi mikroskopisnya menggunakan mikroskop beda fase. Jumlah sel tiap mililiter dihitung menggunakan kamar hitung Neubauer. Kurva pertumbuhan dibuat untuk tiga generasi kultur dari isolat KD3. Sel dipanen pada fase logaritma akhir setelah 150-200 jam pada nilai densitas optis 0.35. Pengamatan mikroskop beda fase menunjukkan 57.5×10^6 sel Thermoplasma tiap mililiter, berbentuk telur mata sapi dengan rata-rata ukuran diameternya 1.2 μ m. Tidak ada kontaminasi mikroorganisme lain yang ditemukan, khususnya Bacillus acidocaldarius yang dalam eksperimen ini tidak ditemukan. Dari sel yang dipanen, dilakukan ekstraksi total lipid membrannya, cairan organik diuapkan dalam rotavapor dan pola lipid yang dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis menunjukkan pola karakteristik spesies Thermoplasma.

Kesimpulan: Dari isolat Kawah Domas, spesies Thermoplasma dapat dikultur secara selektif seperti ditunjukkan oleh mikroskop beda fase dan menggunakan kromatografi lapis tipis yang menunjukkan pola lipid yang khas pada membrannya.

.....In this study, thermoacidophilic archaea were isolated from hot acidic sulfur springs in Kawah Domas, Tangkuban Perahu. Isolates KD1 to KD3 were taken at pH 2 and temperatures between 52 and 57 oC. From the variety of extremophilic microorganisms in such habitat (e.g., Thermoplasma species, Sulfolobus species, Bacillus acidocaldarius), selective cultures with optimum conditions for the growth of Thermoplasma species were applied. Wild type Thermoplasma at Kawah Domas is growing anaerobic-autotrophically on elemental sulfur, but is able to grow microaerophilic-heterotrophically in culture with glucose and Difco yeast extract in sulfuric acid. The latter growth conditions were chosen at 55 ± 2 oC and pH 1.5-2 in Freundt's medium through serial transfer for several generations to select Thermoplasma species. For micro-aeration, a syringe cannula was inserted into the rubber top of the culture bottles. Prior to culture,

the medium and additional components were divided into 300 mL bottles and sterilized at 121 °C in an autoclave. Culture growth was monitored photometrically by OD at 578 nm and by phase contrast microscopy. The number of cells per mL of culture was counted in a Neubauer chamber. Growth curves were plotted for three culture generations of isolate KD3. Cells were harvested in late log-phase after 150 - 200 hours at OD 0.35. Phase contrast microscopy showed 57.5×10^6 Thermoplasma cells per mL, typically “fried-egg” shaped with an average size of 1.2 μ m in diameter. No contamination by other microorganisms could be found, especially Bacillus acidocaldarius was not present. From harvested cells, total membrane lipids were extracted, organic solvents evaporated in a rotavapor and the lipid pattern analysed by thin layer chromatography showing a lipid pattern characteristic of Thermoplasma species.

Conclusion: From Kawah Domas isolates, Thermoplasma species could be cultured selectively as demonstrated by phase contrast microscopy and by thin layer chromatography with the characteristic membrane lipid pattern.