

PRODUKSI β GLUKAN OLEH AGROBACTERIUM PADA MEDIA MENGANDUNG SUMBER KARBON BERBEDA DAN PENAMBAHAN ASAM GLUTAMAT

Kusmiati

Pusat Penelitian Bioteknologi – LIPII, Raya Bogor Km 46, Cibinong Bogor 16911
Email: kusmiati02@yahoo.com

Abstrak

Bakteri *Agrobacterium* mampu menghasilkan senyawa β -glukan. Senyawa ini merupakan homopolisakarida yang terdiri dari monomer glukosa; Aplikasi β -glukan banyak digunakan untuk industri pangan, obat-obatan dan kosmetika. Produksi β -glukan oleh *Agrobacterium sp* dipengaruhi komposisi media fermentasi. Pada penelitian ini digunakan sumber karbon berbeda yaitu glukosa dan manitol sebesar 4%, dan penambahan asam glutamat dengan variasi konsentrasi 0,05 % dan 0,1%. Sebanyak tiga galur bakteri digunakan untuk memproduksi β -glukan yaitu *Agrobacterium radiobacter* (referensi), *Agrobacterium sp* lokal tipe mutan, dan *Agrobacterium* lokal tipe liar. Bakteri dikultur hingga fase stasioner dan diekstraksi menggunakan metode netralisasi asam-basa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *A. radiobacter* (Referensi) menghasilkan bobot β -glukan tertinggi pada konsentrasi asam glutamat 0,05% sebesar 16,0 mg (sumber C glukosa) dan sebesar 15,0 mg (sumber C manitol); rasio kadar glukosa : protein tertinggi yaitu 0,158 pada media mengandung manitol dan asam glutamat 0,05%. Kultur *Agrobacterium sp.* mutan menghasilkan bobot β -glukan tertinggi pada konsentrasi asam glutamat 0,1% sebesar 47,0 mg (sumber C glukosa) dan sebesar 23,0 mg (sumber C manitol); rasio kadar glukosa : protein tertinggi yaitu 0,143 pada media mengandung manitol dan asam glutamat 0,1%. Pada kultur *Agrobacterium sp.* liar menghasilkan bobot β -glukan tertinggi sebesar 23,0 mg pada konsentrasi asam glutamat 0,05%; rasio kadar glukosa : protein tertinggi yaitu 0,088.

Kata kunci: β -glukan, bakteri *Agrobacterium*, mutan, sumber C, asam glutamat

PENDAHULUAN

Kemampuan mikroba dalam menghasilkan senyawa-senyawa baru yang bermanfaat untuk obat-obatan sudah banyak ditemukan contohnya pada bakteri *Agrobacterium sp.* *Agrobacterium sp.* termasuk ke dalam genus *Rhizobiaceae* yang merupakan jenis bakteri Gram negatif bersifat aerobik. Bakteri ini dapat menghasilkan senyawa polisakarida ekstraseluler yaitu β -glukan yang bermanfaat di industri makanan, obat-obatan dan kosmetika. Beta glukan termasuk senyawa homopolisakarida yaitu polisakarida yang tersusun dari satu jenis gula yaitu D-glukosa. β -Glukan terdapat pada selubung (*capsule*) yang merupakan lapisan ekstraseluler yang melekat pada permukaan sel serta merupakan komponen lapisan dinding sel bakteri seperti *Agrobacterium sp.*, *Alcaligenes sp.*, *Rhizobium sp.*, dan *Saccharomyces sp.* Beta glukan termasuk ke dalam kategori GRAS (*Generally Regarded As Safe*) dan telah mendapat rekomendasi dari Departemen makanan dan obat-obatan (FDA) di Amerika Serikat pada tahun 1996, sehingga aman untuk dikonsumsi manusia (Kim *et al*, 2000).

Penggunaan β -glukan dalam industri makanan telah berkembang pesat. β -glukan telah dipasarkan dalam bentuk penstabil maupun penambah rasa pada makanan. Jepang kini telah membuat daging sintesis dari β -glukan yang diperuntukkan bagi para vegetarian, karena bentuk gelnya yang memiliki viskositas tinggi. Berbagai penelitian ilmiah mengungkapkan bahwa dengan

mengonsumsi β -glukan dapat memberikan efek pengobatan antara lain sebagai antioksidan, antikolesterol, perlindungan terhadap radiasi, antipenuaan dini, dan sebagai antitumor (Spicer *et al*, 2004)).

Optimalisasi produk β -glukan dapat dilakukan melalui modifikasi media fermentasi contohnya mengkombinasikan komponen bahan yang digunakan. Media fermentasi harus memenuhi semua nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba untuk memperoleh energi, pertumbuhan sel, bahan pembentuk sel dan biosintesa produk-produk metabolisme. Senyawa sumber karbon dan nitrogen merupakan komponen terpenting dalam media fermentasi, karena sel-sel mikroba dan berbagai produk fermentasi sebagian besar terdiri dari unsur karbon dan nitrogen. Karbohidrat merupakan sumber karbon utama dalam proses fermentasi, contohnya glukosa, manitol dan molase, namun ada beberapa species mikroba yang menggunakan alkohol dan asam organik sebagai sumber karbon. Glukosa merupakan sumber karbon paling disukai oleh sebagian besar mikroba karena merupakan gula sederhana yang mudah dicerna. Manitol adalah polihidrat alkohol (gula alkohol) yang merupakan turunan dari karbohidrat. Fungsi utama gula alkohol selain untuk penyimpanan energi juga untuk mengendalikan tekanan osmosis. Penambahan manitol pada media merupakan upaya untuk meningkatkan produksi β -glukan dimana manitol mengubah osmolaritas media yang menyebabkan terja-

dinya pengaturan perpindahan zat-zat makanan sehingga mempengaruhi pertumbuhan sel.

Sumber nitrogen sangat diperlukan untuk media fermentasi selain sumber karbon. Sumber nitrogen berperan untuk kelangsungan hidup mikroba. Ada dua sumber nitrogen yang umum digunakan dalam media fermentasi yaitu anorganik dan organik. Sumber nitrogen anorganik dapat berupa garam ammonium, nitrat dan nitrit, sedangkan sumber nitrogen organik yaitu asam amino, protein dan urea. Asam glutamat merupakan salah satu asam amino yang tergolong ke dalam sumber nitrogen organik. Penambahan asam glutamat ke dalam media fermentasi untuk meningkatkan produksi β -glukan dari *Agrobacterium* sp. Dengan mempercepat pertumbuhan dan pembentukan polisakarida dari sel mikroba.

Sumber karbon berbeda dan variasi konsentrasi asam glutamat dalam media fermentasi dapat mempengaruhi pembentukan polisakarida (β -glukan) dari sel mikroba. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan produksi β -glukan oleh *Agrobacterium* sp. melalui modifikasi media fermentasi yang mengandung sumber karbon berbeda yaitu manitol dan glukosa, serta mengandung asam glutamat dengan konsentrasi yang bervariasi sebagai sumber nitrogen. Mikroorganisme yang digunakan adalah *Agrobacterium radiobacter* (Referensi), *Agrobacterium* sp lokal tipe liar dan *Agrobacterium* sp. lokal tipe mutan.

METODE PENELITIAN

a. Persiapan media

Media regenerasi. Media regenerasi *Agrobacterium* sp. dengan komposisi sebagai berikut (b/v): Bakto Tripton 1,0 %, Ekstrak ragi 0,5 %, NaCl 1,0 %, dan Bakto agar 2,0 %. Bahan-bahan tersebut ditimbang dan dilarutkan dengan 100 mL akuades, dihomogenkan dan dipanaskan hingga larut sempurna. Sebanyak 4 ml dipipet masing-masing ke tabung reaksi dan disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atmosfer selama 15 menit. Tabung dimiringkan dan dидiamkan hingga memadat.

Media pertumbuhan. Media pertumbuhan yang digunakan dengan komposisi sebagai berikut (b/v): Bakto Tripton 1,0 %, Ekstrak ragi 0,5 %, dan NaCl 1,0 %. Bahan-bahan tersebut kemudian dilarutkan dengan 25 mL akuades didalam Erlenmeyer dan dihomogenkan, kemudian disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atmosfer selama 15 menit.

Media fermentasi. Komposisi media fermentasi menggunakan perlakuan sumber

karbon berbeda yaitu glukosa dan manitol serta variasi konsentrasi asam glutamat seperti tercantum pada Tabel 1.

Masing-masing bahan ditimbang dan dilarutkan dengan 100 mL akuades dalam erlenmeyer, disterilkan di otoklaf pada suhu 121°C, tekanan 1 atmosfer selama 15 menit. Beta glukan diproduksi pada media fermentasi selama enam hari, menggunakan inkubator bergoyang, dengan kecepatan 150 rpm, pada suhu kamar.

b. Regenerasi *Agrobacterium* sp.

Biakan *Agrobacterium* sp. sebanyak satu ose dari stok kultur diinokulasikan kedalam media regenerasi secara aseptis kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam dengan kecepatan agitasi 150 rpm.

c. Prakultur *Agrobacterium* sp. dalam media pertumbuhan.

Agrobacterium sp. yang telah diregenerasi, diinokulasikan sebanyak satu ose ke dalam 25 mL media pertumbuhan, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam dengan kecepatan agitasi 150 rpm.

d. Produksi β -glukan pada media fermentasi

Sebanyak 1% prakultur *Agrobacterium* sp. dalam media pertumbuhan diinokulasikan ke dalam 50 mL media fermentasi kemudian diinkubasikan dalam inkubator bergoyang dengan kecepatan 200 rpm pada suhu kamar selama enam hari. Masing-masing perlakuan dilakukan dengan 2 kali pengulangan

e. Ekstraksi β -glukan dari media fermentasi

Kultur bakteri berumur enam hari dalam media fermentasi dengan berbagai perlakuan disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm pada suhu 20°C selama 20 menit. Endapan yang diperoleh ditambah 20 mL HCl 5 N, disentrifus kembali dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C. Endapan yang diperoleh dilarutkan dengan 20 mL NaOH 1 N, disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C. Endapan yang diperoleh dikeringkan sebagai bobot sel (g). Supernatannya dinetralkan dengan penambahan HCl 5 N hingga mencapai pH 6,8-7,0, kemudian supernatan tersebut disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C. Endapan yang diperoleh dicuci dengan H₂O sebanyak 20 mL lalu disentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit pada suhu 20°C. Setelah dilakukan pencucian

dengan H₂O, endapan tersebut dicuci dengan 10 mL etanol absolut kemudian sentrifus dengan kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit bersuhu 20°C. Endapan yang diperoleh dikeringkan dan ditimbang (g) sebagai β-glukan (*crude*).

f. Perhitungan bobot kering β-glukan (*crude*)

Perhitungan bobot kering dilakukan dengan mengeringkan biomassa hasil ekstraksi di oven pada suhu ±50°C selama kurang lebih 48 jam.

g. Penetapan kadar β-glukan ekivalen glukosa (Metode Fenol sulfat)

Pembuatan Kurva kalibrasi glukosa. Timbang 100 mg baku pembanding glukosa, dilarutkan dalam labu tentukur 100 mL dengan akuades sampai batas tanda, kocok sampai homogen. Sebanyak 10 µL; 20 µL; 40 µL; 60 µL; 80 µL dan 100 µL. Masing-masing konsentrasi tersebut dipipet ke dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan akuades sampai 1000 µL, vortex hingga homogen. Tambahkan 0,5 mL fenol 5% dan 2,5 mL H₂SO₄ p dalam tabung reaksi, vortex hingga homogen, diamkan selama 10 menit, didihkan selama 15 menit. Serapan diukur dengan spektrofotometer pada λ 490 nm. Sebagai blanko digunakan 1 ml akuades.

Uji kadar β-glukan ekivalen glukosa dalam sampel β-glukan (*Crude*). Sampel β-glukan sebelumnya dilarutkan terlebih dahulu dalam natrium hidroksida 1N, kemudian dipipet masing-masing larutan uji. Kemudian ditambah akuades sedemikian sehingga total volume adalah 1,0 mL. Perlakuan selanjutnya sama dengan pembuatan kurva kalibrasi glukosa. Hasil serapan yang diperoleh diplotkan ke persamaan garis regresi baku pembanding glukosa untuk memperoleh kadar glukosa dalam larutan uji yang diukur. Dengan memperhitungkan faktor pengenceran pada setiap larutan uji dan bobot kering β-glukan (*crude*), maka dengan persamaan :

$$Kadarglukosa = \frac{X \times Fp \times Volawal}{a} \times 100\%$$

X = Konsentrasi glukosa
a = Bobot sampel β-glukan (*crude*)
Fp = Faktor pengenceran

h. Kadar Protein (Metode Lowry)

Pembuatan Kurva kalibrasi protein. Timbang 10 mg baku pembanding *Bovine serum albumin* (BSA), larutkan dengan akuades dalam labu tentukur 10 mL sampai batas tanda, kocok sampai homogen. Sebanyak 100 µL; 110 µL; 120 µL; 130 µL; 140 µL; 150 µL; 160 µL; 170 µL; 180 µL 190 µL; 200 µL; dan 210 µL dari larutan tersebut dipipet kedalam tabung reaksi dan diencerkan dengan akuades sampai 500 µL. Tambahkan 0,5 mL NaOH 1N, didihkan selama 20 menit pada suhu 100°C, dinginkan. Tambahkan 2,5 mL campuran larutan Na₂CO₃ 5%, CuSO₄ 1%, dan Na.K.Tartart 2% (50:1:1) vortex hingga homogen. Tambahkan 0,5 mL Folin C kedalam masing-masing tabung, vortex hingga homogen, kemudian diamkan selama 30 menit lalu saring. Serapan diukur dengan spektrofotometer pada λ 750 nm.

Uji kandungan protein. Sampel β-glukan sebelumnya dilarutkan dengan natrium hidroksida 1N, kemudian dipipet masing-masing larutan uji, ditambah akuades sehingga volumenya 0,5 mL. Perlakuan selanjutnya sama dengan pembuatan kurva kalibrasi protein. Hasil serapan yang diperoleh diplotkan ke persamaan garis regresi baku pembanding protein untuk memperoleh kadar protein dalam larutan uji yang diukur. Dengan memperhitungkan faktor pengenceran pada setiap larutan uji dan bobot kering β-glukan (*crude*), maka dengan persamaan :

$$Kadarprotei = \frac{X \times Fp \times Vol. awal}{a} \times 100\%$$

dimana : X = Konsentrasi glukosa
a = Bobot sampel β-glukan (*crude*)
p = Faktor pengenceran

Tabel 1. Komposisi media fermentasi untuk produksi β-glukan (b/v).

Komposisi Media	1	2	3	4	5	6
Glukosa	4 %	4 %	4 %	-	-	-
Manitol	-	-	-	4 %	4 %	4 %
CaCO ₃	0,5 %	0,5 %	0,5 %	0,5 %	0,5 %	0,5 %
As. Glutamat	0 %	0,05 %	0,1 %	0 %	0,05 %	0,1 %
KH ₂ PO ₄	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 %	0,05 %	0,05 %	0,05 %	0,05 %	0,05 %
Ekstrak ragi	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %	0,1 %

Tabel 2. Hasil bobot kering β-glukan (*crude*) dari tiga galur *Agrobacterium* sp.

Perbandingan konsentrasi sumber karbon dan sumber N		Berat kering β-glukan (<i>crude</i>) (mg) per 50 ml			
Sumber C	Asam Glutamat		<i>Agrobacterium</i> ref. ^b	<i>Agrobacterium</i> liar ^a	<i>Agrobacterium</i> Mutan ^a
Glukosa 4%	0	d	5	16	6
Glukosa 4%	0,05	c	16	23	4
Glukosa 4%	0,1	a	5	20	47
Manitol 4%	0	d	6	16	14
Manitol 4%	0,05	b	15	23	21
Manitol 4%	0,1	b	14	23	23

Ket : Huruf –huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (taraf uji 5%).

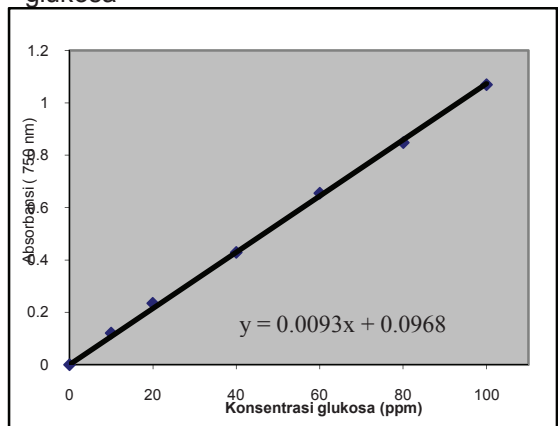
HASIL DAN PEMBAHASAN
Regenerasi *Agrobacterium* sp.

Agrobacterium sp. yang diinokulasi pada media regenerasi setelah diinkubasi mengalami pertumbuhan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media dari yang jernih menjadi keruh, dan bakteri tumbuh dengan membentuk koloni berwarna putih susu. Hasil pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan sel *Agrobacterium* sp. berbentuk batang memiliki flagela yang tersebar merata pada permukaan sel yang berguna sebagai alat gerak sel. Pewarnaan dengan safranin menyebabkan sel terlihat berwarna merah muda (Gambar 1).



Gambar 1. Bentuk Morfologi Sel *Agrobacterium* sp. dengan Pewarnaan Gram (1.000 x).

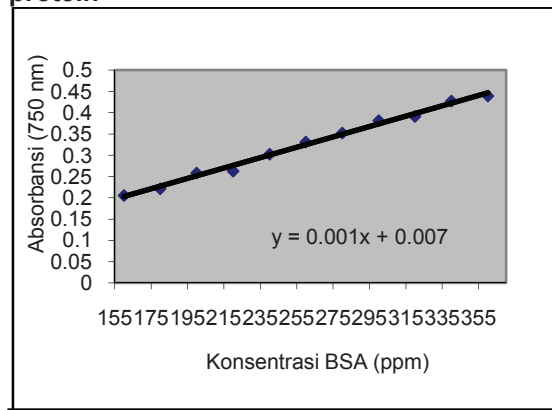
Pembuatan kurva kalibrasi Larutan baku glukosa



Gambar 2. Hubungan konsentrasi glukosa dengan serapan pada λ 490 nm

Kurva kalibrasi larutan glukosa pada panjang gelombang 490 nm dibuat dengan menggunakan beberapa konsentrasi dengan menggunakan metode fenol sulfat spektrofotometri cahaya tampak dan menghasilkan persamaan regresinya $Y = 0,0093 X + 0,0968$ (Gambar 2) dengan koefisien korelasi = 0,9989 seperti yang terlihat pada Gambar 2. Koefisien korelasi mendekati 1 menunjukkan bahwa ada hubungan linier antara serapan dan konsentrasi, dimana kenaikan serapan sebanding dengan konsentrasi.

Pembuatan kurva kalibrasi larutan baku protein



Gambar 3. Hubungan konsentrasi BSA dengan serapan pada λ 750 nm.

Kurva kalibrasi Bovine Serum Albumin pada panjang gelombang 750 nm dibuat dengan menggunakan beberapa konsentrasi dan menghasilkan persamaan regresinya $Y = 0,0012 X + 0,0076$ dengan koefisien korelasi = 0,9962 seperti yang terlihat pada Gambar 3. Koefisien korelasi mendekati 1 menunjukkan bahwa ada hubungan linier antara serapan dan konsentrasi dimana kenaikan serapan sebanding dengan konsentrasi

Hasil Berat Kering β -glukan (*crude*), kadar glukosa dan kadar Protein dalam β -glukan *Agrobacterium radiobacter* (*referensi*), *Agrobacterium* sp lokal tipe liar dan tipe mutan.

Asam glutamat sebagai sumber nitrogen dalam media fermentasi yang mengandung sumber karbon berbeda, divariasikan konsentrasinya untuk mendapatkan konsentrasi yang optimal dalam memproduksi β -glukan dari *Agrobacterium radiobacter* (*referensi*); *Agrobacterium* sp tipe liar dan mutan. Bakteri difermentasi selama 6 hari, setelah itu kultur diekstraksi sehingga diperoleh β -glukan dan dikeringkan untuk mengetahui bobot kering β -glukan (*crude*) yang dihasilkan tiap 50 mL kultur media. Hasil bobot kering dari ketiga galur *Agrobacterium* sp. tercantum pada Tabel 2.

Pada Tabel 3, memperlihatkan bahwa pada media dengan sumber karbon glukosa, menghasilkan kadar glukosa tertinggi sebesar 5,52% dengan rasio kadar glukosa: protein sebesar 0,129, sedangkan pada media yang mengandung sumber karbon manitol, pada konsentrasi asam glutamat sebesar 0,1% menghasilkan kadar glukosa tertinggi sebesar 4,63%, sementara rasio glukosa:protein diperoleh tertinggi sebesar 0,159 pada media mengandung manitol 4% dan asam glutamat 0,05%.

Beta glukan dari *Agrobacterium radiobacter* (*referensi*)

Hasil penelitian pada Tabel 2 menunjukkan bahwa modifikasi media yang dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi asam glutamat dan perbedaan sumber karbon yang digunakan menghasilkan berat kering β -glukan (*crude*) tertinggi pada fermentasi *A. radiobacter* ref.pada media mengandung konsentrasi asam glutamat sebesar 0,05%, dengan menggunakan sumber karbon glukosa maupun manitol, masing –masing sebesar 16,0 mg dan 15,0 mg. Hasil tersebut tidak berbeda jauh, hal ini menunjukkan bahwa bakteri *A.radiobacter* (*referensi*) dapat memanfaatkan sumber karbon glukosa mau-

pun manitol untuk pertumbuhan dan biosintesis β -glukan.

Beta glukan dari *Agrobacterium* sp. Liar

Pada Tabel 2 menunjukkan bahwa berat kering β -glukan (*Crude*) tertinggi hasil fermentasi *Agrobacterium* sp. liar dicapai pada media mengandung konsentrasi asam glutamat 0,05% baik dengan sumber karbon glukosa maupun manitol sebesar 23,0 mg.. dengan menggunakan sumber karbon glukosa maupun manitol. Media dengan sumber karbon glukosa menghasilkan kadar glukosa tertinggi sebesar 2,64% dengan rasio Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa kadar glukosa tertinggi dihasilkan pada konsentrasi asam glutamat 0,05% baik glukosa:protein sebesar 0,088, sedangkan media dengan sumber karbon manitol menghasilkan kadar glukosa tertinggi sebesar 0,98% dengan rasio glukosa:protein sebesar 0,029.

Beta glukan dari *Agrobacterium* sp. Mutan.

Hasil penelitian pada Tabel 2 *Agrobacterium* sp lokal tipe mutan tumbuh optimal pada media dengan konsentrasi asam glutamat 0,1% yang menghasilkan berat kering β -glukan (*Crude*) sebesar 47.0 mg. Hal ini menunjukkan bahwa untuk bakteri *Agrobacterium* sp. lokal tipe mutan sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Breveeld dan Kim bahwa semakin tinggi konsentrasi nitrogen maka produksi biomassa juga meningkat. *Agrobacterium* sp. tipe mutan memperlihatkan adanya peningkatan produksi β -glukan dilihat dari berat kering β -glukan (*Crude*) yang dihasilkan.

Tabel 5 memperlihatkan bahwa, untuk media dengan sumber karbon glukosa, kadar glukosa tertinggi dihasilkan pada konsentrasi asam glutamat 0,05% yaitu sebesar 3,69% dengan rasio glukosa: protein sebesar 0,230, tetapi media dengan sumber karbon manitol kadar glukosa tertinggi dihasilkan sebesar 1,33% pada konsentrasi asam glutamat sebesar 0,1% dan rasio glukosa: protein sebesar 0,079.

Tabel 3. Kadar glukosa dan rasio Kadar glukosa: protein dalam β -glukan *A. radiobacter* (ref.)

Perbandingan konsentrasi sumber karbon dan sumber nitrogen	Kadar glukosa (%)	Rasio Kadar glukosa : protein
Glukosa 4% : Asam Glutamat 0%	5,52	0.129
Glukosa 4% : Asam Glutamat 0,05%	1,56	0.068
Glukosa 4% : Asam Glutamat 0,1%	4,14	0.079
Manitol 4% : Asam Glutamat 0%	4,44	0.109
Manitol 4% : Asam Glutamat 0,05%	4,33	0.159
Manitol 4% : Asam Glutamat 0,1%	4,63	0.093

Tabel 4. Kadar glukosa dan rasio kadar glukosa:protein dalam β -glukan *Agrobacterium sp* liar.

Perbandingan konsentrasi sumber karbon dan sumber nitrogen	Kadar glukosa (%)	Rasio Kadar glukosa : protein
Glukosa 4% : Asam Glutamat 0 %	1,85	0.079
Glukosa 4% : Asam Glutamat 0,05%	2,64	0.088
Glukosa 4% : Asam Glutamat 0,1%	0,38	0.024
Manitol 4% : Asam Glutamat 0 %	0,78	0.018
Manitol 4% : Asam Glutamat 0,05%	0,98	0.029
Manitol 4% : Asam Glutamat 0,1%	0,34	0.011

Tabel 5. Kadar glukosa dan rasio kadar glukosa:protein dalam β -glukan *Agrobacterium sp*. Mutan

Perbandingan konsentrasi sumber karbon dan sumber nitrogen	Kadar glukosa (%)	Rasio Kadar glukosa : protein
Glukosa 4 % : Asam Glutamat 0 %	1,82	0.108
Glukosa 4 % : Asam Glutamat 0,05 %	3,69	0.230
Glukosa 4 % : Asam Glutamat 0,1 %	1,74	0.143
Manitol 4 % : Asam Glutamat 0 %	0,95	0.057
Manitol 4 % : Asam Glutamat 0,05 %	0,37	0.025
Manitol 4 % : Asam Glutamat 0,1 %	1,33	0.079

SIMPULAN

1. Penggunaan galur *Agrobacterium sp* yang berbeda berpengaruh terhadap produksi β glukuan.
2. Sumber karbon berbeda (glukosa, manitol) dan variasi konsentrasi asam glutamat dalam media fermentasi mempengaruhi produksi β -glukan yang dihasilkan oleh tiga galur *Agrobacterium sp*. mencapai tertinggi sebesar 47% oleh *Agrobacterium sp* mutan pada media mengandung sumber C glukosa dan asam glutamat 0,1%
3. Rasio kadar glukosa : protein tertinggi sebesar 0,23 oleh *Agrobacterium sp* mutan pada media mengandung glukosa 4% dan asam glutamat 0,05%

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada *Agrobacterium radiobacter* dan kepada Sdri. Susanti atas bantuannya selama penelitian ini berlangsung. Prof. Makoto Hisamatsu, Phd. Mie University, Japan atas pemberian isolat referensi

DAFTAR PUSTAKA

- Cheseemen, IM., Malcolm Brown JR. 2004. Microscopy of curdlan structure, <http://www.botany.utexas.edu/facstaff/facpage/mbrow/ongres/ichee/htm>. diakses 28 agustus 2004
- Kim MK, Lee IY. Kim KT, Rhee YH., Park YH. 2000. Residual Phosphate concentration under nitrogen-limiting condition regulates curdlan production in *Agrobacterium sp*. J. Biotechnology Microbiology.

- Lee Jung H, Lee In Young. 2004. Optimization of uracil addition for curdlan (β 1-3 glucan) production by *Agrobacterium sp*. <http://www.infomag.ru.8082/dbase/JO41E/01116-168.txt>. diakses 28 Agustus 2004
- Lee IY. 2005. Curdlan. http://www.Wiley-uch.de/books/biopoly/pdf_v05/bpo15006_135_144.pdf. Diakses 6 Januari 2005
- Spicer EJ. Goldenthal EI, Ikada T. 2004. A toxicological assesment of curdlan. <http://www.Wiley-Vch.de/books/-biopoly/pdf-vos/biopol15006-135-144pdf>

TANYA JAWAB

1. Penanya : Agung Abadi K (Univ. Prima Indonesia)

Pertanyaan :

Berdasarkan penelitian ini, ratio kadar glukosa : protein terbaik yang mana?

Jawaban :

Ratio kadar glukosa : protein terbaik yaitu sebesar 0,23 yang diperoleh oleh *Agrobacterium sp* lokal tipe mutan pada fermentasi mengandung glukosa 4% dan asam glutamat 0,05%.

2. Penanya : Elfita (Unsri)

Pertanyaan :

Apakah penghasil β -glukan bisa dihasilkan oleh mikroba lain selain *Agrobacterium sp* dan struktur molekulnya bagian mana yang mempunyai aktifitas antioksidan?

Jawaban :

Ada mikroba lain mampu menghasilkan β -glukoan. Contohnya *Rhizobium sp* dan kelompok yeast yaitu *Saccharomyces cerevisiae*, dengan ikatan β -glikosidik yang bervariasi.

Dilaporkan gugus -OH yang berperan.