

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI TERMOFILIK DARI SUMBER AIR PANAS DI KERINCI – JAMBI

Weni Cahyati^{*1}, Retni S Budiarti², Harlis², Anthoni Agustien¹, Yetria Rilda³

¹Program Studi Biologi, FMIPA, Universitas Andalas, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Jambi, Indonesia

³Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Andalas, Indonesia

Email Korespondensi: cahyatiweni@gmail.com

Abstract

This research aims to identify the genus of thermophilic bacteria found in the hot water source of Abu Kerinci Jambi River Hot Water Village, which can be used for practical material and advanced research on the cultural stock obtained using explorative descriptive methods. The research data were obtained from isolation results using nutrient agar media that was incubated at a temperature of 50°C for 24 to 48 hours, macroscopic observations, microscopic and biochemical tests, as well as genus identification using Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The results of the study showed that there were 6 isolates of thermophilic bacteria that were successfully isolated, and after the identification of the 6 isolates of the bacteria, we obtained 5 isolates (S1, S3, S4, S5, and S6) from the genus *Pseudomonas* and 1 isolate (S2) from the genus *Vibrio*.

Keywords:

Isolation,
Identification,
Thermophilic,
Pseudomonas,
Vibrio.

Pendahuluan

Indonesia dikenal sebagai negara kepulauan dengan iklim tropis serta banyak terdapat daerah pegunungan berapi yang memiliki aktivitas vulkanik yang tinggi, salah satunya terdapat di Provinsi Jambi khususnya di daerah Kabupaten Kerinci. Adanya gunung berapi menyebabkan timbulnya sumber air panas, hal ini dapat terjadi karena magma yang tidak mencapai permukaan pada proses pembekuannya melepaskan panas (Geost, 2019). Salah satu sumber air panas terletak di daerah Kabupaten Kerinci yaitu sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu yang berjarak 11 KM dari Kota Sungai Penuh. Setelah dilakukan pengukuran terhadap suhu dan pH di beberapa titik yang berbeda, didapatkan suhu air panas Desa Air Panas Sungai Abu yaitu berkisar 55°–60°C dan pH 7,8–8,0. Melalui pengukuran suhu tersebut maka mikroorganisme yang berpotensi dapat hidup dan tumbuh yaitu bakteri termofilik.

Penelitian mengenai bakteri termofilik yang terdapat pada sumber air panas beberapa telah dilakukan seperti (Muharni, 2009) telah menemukan bakteri dari genus *Bacillus* yang didapat dari air panas Danau Ranau Sumatera Selatan yang bersuhu 37,3°–63,7°C. Selain itu (Kurniawan, 2017) juga telah menemukan bakteri *Bacillus sp.* dari sumber air panas Semurup Kabupaten Kerinci, Jambi yang mempunyai suhu 60°–80°C dengan pH 7. (Asnawi, 2006) telah berhasil mengisolasi beberapa jenis bakteri termofilik dari air panas Pacet, Jawa Timur, yaitu *Bacillus sp.*, *Thermus sp.*, *Acetogenium sp.*, dan *Pseudomonas sp.*

Bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu bertahan hidup dilingkungan ekstrim seperti pada lingkungan dengan suhu tinggi yaitu 45°–80°C. Dalam banyak kasus, selain dapat beradaptasi, kondisi lingkungan ekstrim juga dimanfaatkan oleh bakteri termofil untuk berproduksi (Mahmudah et al., 2016). Bakteri termofilik yang didapat dari sumber air panas biasanya dilakukan penelitian dengan diisolasi, dikarakterisasi dan dilakukan uji potensi enzimatis

yang dimilikinya, hal ini dikarenakan bakteri termofilik dapat menghasilkan enzim termostabil atau enzim tahan panas yang dapat digunakan pada bidang industri, pengolahan limbah, pelapukan mineral ataupun untuk studi bioteknologi (Tuntun & Huda, 2014).

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif dengan pendekatan yang digunakan yaitu deskriptif kualitatif yang bertujuan untuk mendeskripsikan genus bakteri yang didapatkan setelah diidentifikasi. Sumber data diperoleh dari hasil isolasi dan identifikasi melalui pengamatan morfologi koloni bakteri, pewarnaan gram, pewarnaan spora dan uji biokimia terhadap isolat bakteri termofilik yang bertujuan untuk mengetahui genus dari isolat bakteri termofilik tersebut.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kaca ukuran 100 ml, *thermal container*, termometer, pH meter digital, timbangan digital, bunsen, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, cawan petri, *erlenmeyer*, jarum ose, inkubator, mikroskop, *objek glass*, tabung durham, kompor listrik, autoklaf, lemari pendingin kawat kasa dan kamera.

Bahan yang digunakan adalah sampel bakteri termofilik, spiritus, korek api, tisu, kapas, kertas label, koran akuades, *Nutrien Agar* (NA), *strach agar*, SIM agar, *simmons citrate agar*, *trypticase soy agar*, *MR-VP broth*, *nutrien gelatin*, *brom timol blue lactose broth*, *brom timol blue dekstrosa broth*, *brom timol blue sukrosa broth*, alkohol 95%, larutan NaCl 0,85%, *kristal violet*, safranin, iodium, reagen barrit a, reagen barrit b, *reagen erlich*, hidrogen peroksida, *methyl red*, *aluminium foil*, dan melakit hijau.

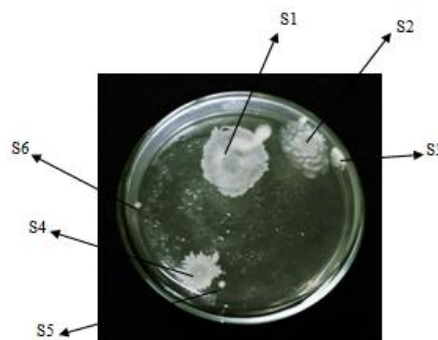
Isolasi Bakteri Termofilik

Isolasi dilakukan dengan pengambilan sampel yang diawali dengan menyiapkan semua alat yang sudah disterilkan, kemudian tentukan titik pengambilan sampel. Selanjutnya botol yang akan digunakan untuk membawa sampel ke laboratorium dibilas dengan air sampel yang akan diambil sebanyak 3 kali. Kemudian dicelupkan botol dengan hati-hati pada kedalaman sekitar 10 cm dibawah permukaan air. Setelah botol terisi air sampel tutup botol dan masukkan ke dalam *thermal container* dan kemudian dibawa langsung ke laboratorium untuk diidentifikasi (Badan Standardisasi Nasional, 2008).

Hasil dan Pembahasan

Pengamatan Jumlah Koloni

Jumlah koloni bakteri termofilik yang ditumbuhkan pada media NA sebanyak 1 ml sampel didapat 6 isolat bakteri yang kemudian isolat bakteri ini diberi kode dengan S1, S2, S3, S4, S5, dan S6. Data dari pengamatan jumlah bakteri dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Jumlah koloni bakteri

Pengamatan Morfologi

Pengamatan morfologi yang telah dilakukan pada penelitian ini didapat sebagai berikut:

Tabel 1. Data Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri

Isolat Bakteri	Karakteristik Morfologi Koloni Bakteri			
	Bentuk Koloni	Elevasi	Margin	Warna
S1	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	<i>Irregular</i>	Putih
S2	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	<i>Lobate</i>	Putih
S3	<i>Irregular</i>	<i>Convex</i>	<i>Lobate</i>	Putih
S4	<i>Round</i>	<i>Convex</i>	<i>Rhizoid</i>	Putih
S5	<i>Round</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	Putih
S6	<i>Round</i>	<i>Convex</i>	<i>Smooth</i>	Putih

Pewarnaan gram dan Pewarnaan Spora

Pengamatan pewarnaan gram dan pewarnaan spora yang telah dilakukan pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 2 dan Gambar 3.



Gambar 2. Gram negatif

Uji Biokimia

Uji biokimia yang telah dilakukan dalam penelitian ini didapat data sebagai berikut:

Tabel 2. Data Uji Biokimia

Nama uji			Isolat					
			S1	S2	S3	S4	S5	S6
Hidrolisis amilum			+	+	-	-	-	-
Hidrolisis gelatin			+	+	-	-	-	-
Fermentasi karbohidrat	Dekstrosa	Asam	-	+	-	-	-	-
		Gas	-	+	-	-	-	-
	Laktosa	Asam	-	-	-	-	-	-
		Gas	-	-	-	-	-	-
	Sukrosa	Asam	-	+	-	-	-	-
		Gas	-	-	-	-	-	-

		Gas	-	+	-	-	-	-
Produksi indol			-	-	-	-	-	-
Tes katalase			+	+	-	+	+	-
Tes methyl red (MR)			+	+	+	+	+	+
Tes voges proskauer			-	-	-	-	-	-
Tes pemanfaatan sitrat			-	-	-	-	-	-
Tes hidrogen sulfida (H ₂ S)			-	-	-	-	-	-

Berikut hasil dari reaksi uji biokimia:

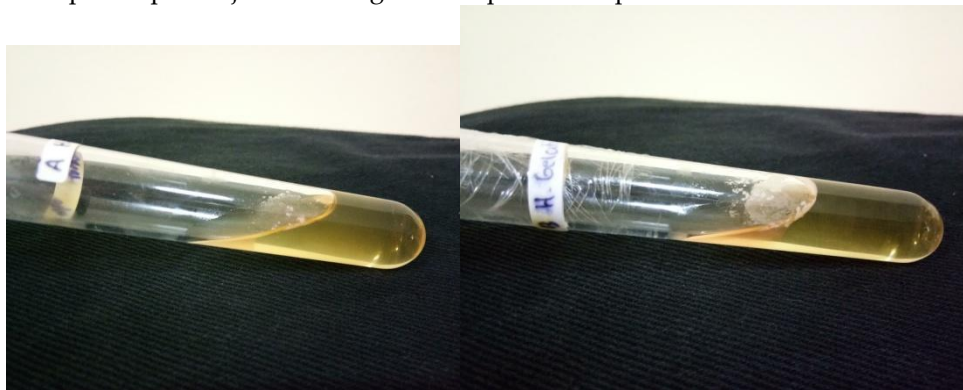
Hasil positif pada uji hidrolisis amilum dapat dilihat pada Gambar 4.



S1 (+) S2 (+)

Gambar 4. Hidrolisis amilum

Hasil positif pada uji hidrolisis gelatin dapat dilihat pada Gambar 5.

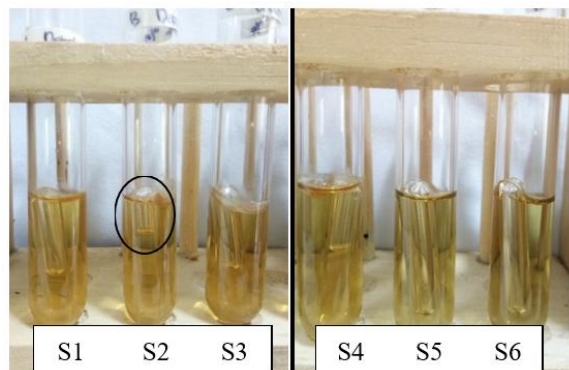


S1 (+)

S2 (+)

Gambar 5. Hidrolisis gelatin

Hasil positif pada uji fermentasi karbohidrat dekstroza broth dapat dilihat pada Gambar 6.

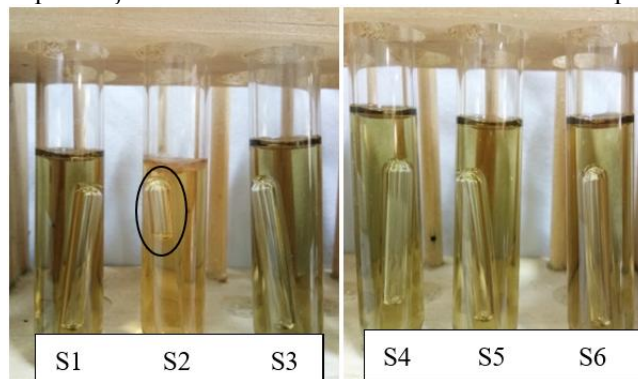


Gambar 6. Fermentasi karbohidrat (Dekstrosa)

Keterangan:

Isolat bereaksi positif (+) asam dan gas: ditunjukkan pada lingkaran hitam yaitu S2

Hasil positif pada uji fermentasi karbohidrat sukrosa broth dapat dilihat pada Gambar 7.

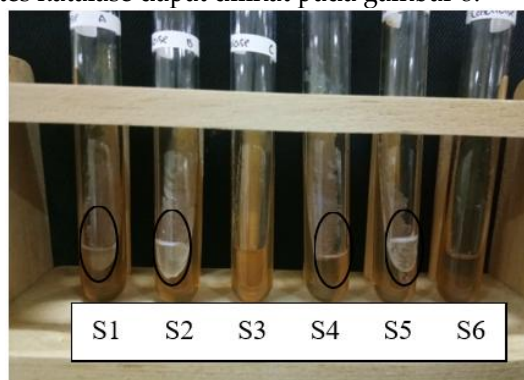


Gambar 7. Fermentasi karbohidrat (Sukrosa)

Keterangan:

Isolat bereaksi positif (+) asam dan gas: ditunjukkan pada lingkaran hitam yaitu S2

Hasil positif pada tes katalase dapat dilihat pada gambar 8.

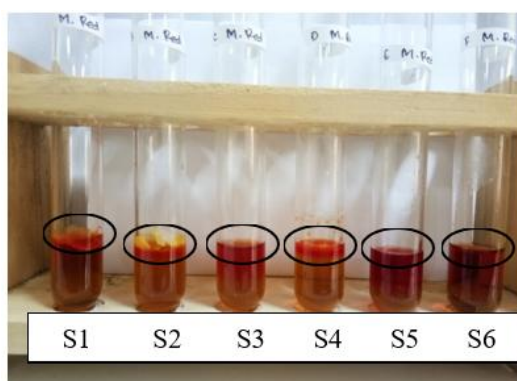


Gambar 8. Tes katalase

Keterangan:

Isolat bereaksi positif (+): ditunjukkan pada lingkaran yaitu S1, S2, S4, dan S5

Hasil positif semua isolat pada tes methyl red (MR) dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Tes methyl red (MR)

Keterangan:

Semua isolat bereaksi positif (+) ditunjukkan pada lingkaran hitam

Sampel air panas dalam penelitian ini diambil dari sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu kerinci Jambi dengan titik lokasi 2°2'43"S 101°26'21"E. Sumber air panas ini mempunyai suhu berkisar antara 55°–65°C dengan pH 7,8–8,1. Pada penelitian ini suhu inkubasi yang digunakan adalah suhu 50°C, hal ini sesuai dengan penelitian (Irena, 2010), (Tuntun & Huda, 2014) dan (Kurniawan, 2017) yang menggunakan suhu 50°C untuk menginkubasi bakteri termofilik.

Isolasi bakteri termofilik dalam penelitian ini menggunakan media NA (*Nutrient Agar*) yang memenuhi unsur-unsur seperti *beef extract*, pepton dan agar yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh dan berkembang biak. Setelah dilakukan isolasi dan pengamatan morfologi seperti yang dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 1, selanjutnya dilakukan pengamatan pada pewarnaan gram dan pewarnaan spora untuk melihat penggolongan isolat bakteri termofilik yang didapatkan serta untuk mengetahui apakah isolat bakteri tersebut mampu membentuk spora.

Adapun hasil yang didapatkan adalah semua isolat bakteri termofilik termasuk bakteri gram negatif dan pada pewarnaan spora hanya isolat dengan kode S2 dan S3 yang mampu membentuk spora. Pewarnaan gram bertujuan untuk mengelompokkan bakteri menjadi 2 kelompok besar yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Bakteri gram positif akan berwarna ungu dan bakteri gram negatif akan berwarna merah. Bakteri gram positif mampu mempertahankan zat warna kristal violet meskipun dicuci dengan alkohol sedangkan bakteri gram negatif akan kehilangan zat warna kristal violet setelah dicuci dengan alkohol sehingga warna yang tampak merupakan warna tandingan yaitu safranin yang berwarna merah (Pelczar & Chan, 2008).

Identifikasi melalui hasil uji biokimia

Identifikasi selanjutnya adalah melihat reaksi pada uji biokimia yaitu untuk melihat kemampuan bakteri menghidrolisis amilum dan gelatin dan didapatkan hasil dari 5 isolat bakteri termofilik yang ditemukan bahwa isolat dengan kode S1 dan S2 mampu menghidrolisis amilum (Gambar 4) dan gelatin (Gambar 5) sedangkan 3 isolat lainnya tidak. Hal ini ditandai dengan terbentuknya zona bening pada medium starch agar serta keadaan media yang tidak membeku pada hidrolisis gelatin. Menurut (Cappuccino & Sherman, 2014) Uji hidrolisis amilum ini menggunakan *starch agar* untuk menunjukkan aktivitas hidrolitik dari eksoenzim. Medium ini tersusun dari nutrisi agar dengan tambahan *starch* yang berperan sebagai substrat polisakarida. Bakteri yang ditumbuhkan pada media ini akan menguraikan zat-zat yang ada pada medium tersebut dan jika bakteri tersebut mampu memproduksi enzim amilase maka amilum akan ikut terurai. Aktivitas ini dapat diuji menggunakan iodium yang diteteskan pada permukaan media yang telah ditumbuhi

bakteri. Jika amilum telah terhidrolisis maka akan membentuk zona bening yang mengelilingi koloni bakteri dan jika amilum tidak terhidrolisis maka media hanya berwarna ungu kehitaman.

Sementara itu gelatin merupakan protein yang diproduksi dari hidrolisis kolagen yang merupakan sebagian besar komponen dari penghubung jaringan dan tendon pada manusia dan hewan. Dibawah temperatur 25°C gelatin akan memadat dan di atas 25°C gelatin akan mencair. Pencairan gelatin juga dapat terjadi jika terdapat bakteri yang mampu memproduksi enzim ekstraseluler proteolitik yaitu gelatinase yang dapat menghidrolisis protein menjadi asam amino, dan meskipun berada pada suhu rendah (4°C) gelatin tidak akan memadat (Cappuccino & Sherman, 2014).

Selanjutnya pengujian isolat bakteri termofilik terhadap fermentasi karbohidrat menggunakan 3 media yaitu *dekstrosa broth*, *laktosa broth*, dan *sukrosa broth* dalam tabung reaksi yang berisi tabung durham. Berdasarkan hasil yang didapatkan dari 6 isolat hanya 1 isolat yaitu S2 yang mampu memfermentasikan karbohidrat yaitu pada medium *dekstrosa broth* (Gambar 6) dan *sukrosa broth* (Gambar 7). Terjadinya fermentasi karbohidrat ditandai dengan berubahnya warna media menjadi kuning keruh dan terdapat gelembung pada tabung durham.

Tes katalase (Gambar 8) yang dilakukan pada 6 isolat bakteri termofilik menghasilkan 4 isolat yaitu S1, S2, S4, dan S5 positif bereaksi terhadap hidrogen peroksida, sedangkan 2 isolat lainnya yaitu S3 dan S6 tidak menunjukkan reaksi terhadap hidrogen peroksida. Selanjutnya hasil tes *methyly red* (Gambar 9) pada 6 isolat bakteri termofilik menunjukkan hasil positif karena setelah diinkubasi kultur bakteri pada media MRVP Broth menghasilkan lapisan merah pada media ketika diberi indikator *methyly red*. Sementara itu Hasil dari tes produksi indol, tes *voges proskauer*, tes pemanfaatan sitrat dan tes hidrogen sulfida terhadap 6 isolat menunjukkan hasil negatif.

Identifikasi pada buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*

Berdasarkan data yang didapat pada pengamatan morfologi, pewarnaan gram dan spora serta uji biokimia didapatkan bahwa isolat dengan kode S1, S3, S4, dan S5 digolongkan pada genus *Pseudomonas* dan isolat dengan kode S2 digolongkan pada genus *Vibrio*. Hal ini dapat diketahui hanya isolat S2 yang mampu memfermentasikan karbohidrat sedangkan 4 isolat lainnya tidak. Menurut (Buchanan & Gibbons, 1974) *Pseudomonas* merupakan kelompok bakteri yang metabolismenya tidak bersifat fermentatif, beberapa termasuk fakultatif kemolitotrof, dapat menggunakan hidrogen atau karbon monoksida sebagai sumber energi, molekul oksigen sebagai akseptor elektron dan beberapa dapat menggunakan nitrat sebagai alternatif akseptor elektron. Katalase positif, beberapa spesies memproduksi asam secara oksidatif dari alkohol dan gula aldosa terutama pada konsentrasi tinggi. Banyak spesies yang mengumpulkan poli b-hidroksibutirat sebagai cadangan karbon intraseluler.

Selain itu hasil uji kimia lainnya juga didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Mahmudah dkk (2016) yang mengidentifikasi isolat bakteri termofilik dari sumber air panas Lejja, Kabupaten soppong dan penelitian (Runtuboi et al., 2018) yang mengisolasi dan identifikasi bakteri termofilik dari sumber air panas di Moso Distrik Muara Tami Kota Jaya Pura Provinsi Papua.

Simpulan dan Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap isolasi dan identifikasi bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Desa Air Panas Sungai Abu Kerinci Jambi ditemukan 6 isolat bakteri termofilik yang berasal dari genus *Pseudomonas* yaitu isolat S1, S3, S4, S5, dan S6 serta genus *Vibrio* dari isolat S2. Untuk penelitian selanjutnya disarankan agar dapat dilakukan identifikasi sampai pada tingkat spesies (molekuler), sehingga diperoleh jenis spesifik bakteri termofilik penghasil enzim termostabil.

Daftar Pustaka

- Asnawi, A. H. (2006). *Keanekaragaman bakteri termofilik yang terdapat dalam sumber air panas di Taman Wisata Padusan Pacet, Kabupaten Mojokerto Jawa Timur Pacet, Kabupaten Mojokerto Jawa Timur*. Universitas Negeri Malang.
- Badan Standardisasi Nasional. (2008). *Metoda Pengambilan Contoh Air Permukaan*. Sni 6989.59:2008, 59, 19. http://ciptakarya.pu.go.id/plp/upload/peraturan/SNI_-6989-59-2008-_Metoda-Pengambilan-Contoh-Air-Limbah.pdf
- Buchanan, R. E., & Gibbons, N. . (1974). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (8 Eight Ed). Waverly Press, INC.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *MICROBIOLOGY: A LABORATORY MANUAL* (Tenth Edit). Pearson.
- Geost, F. (2019). *Mata Air Panas: Pengertian, Proses Terbentuknya, Contoh dan Pemanfaatan*. <https://www.geologinesia.com/2019/05/mata-air-panas.html>
- Irena, A. (2010). *Isolasi dan Optimasi Protease Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Tangkuban Perahu Bandung*. Institut Pertanian Bogor.
- Kurniawan, H. M. (2017). Isolasi Dan Optimasi Ekstrinsik Bakteri Termo-Proteolitik Isolat Sumber Air Panas Semurup, Kab. Kerinci, Jambi Isolation and Extrinsic Optimization of Thermo-Proteolytic Bacteria Isolated From Semurup Hot Spring, Distric of Kerinci, Jambi. *Scientia Journal*, 6(01).
- Mahmudah, R., Baharudin, M., & Sappawali. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4((1)), 31–42.
- Muharni. (2009). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Kitinase. *Jurnal Penelitian Sains Edisi Khusus Desember*, 09(D), 12–15.
- Pelczar, M. J., & Chan, E. C. . (2008). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press.
- Runtuboi, D. Y. P., Gunaedi, T., Simonapendi, M., & Pakpahan, N. N. L. (2018). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas di Moso Distrik Muara Tami Kota Jayapura Provinsi Papua. *Jurnal Biologi Papua*, 10(2), 68–73. <https://doi.org/10.31957/jbp.474>
- Tuntun, M., & Huda, M. (2014). Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan Isolation and identification of thermophilic bacteria from Hot Springs. *Analisis Kesehatan*, 3(1), 297–304.

Nama penulis pertama