

Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas di Moso Distrik Muara Tami Kota Jayapura Provinsi Papua

DIRK Y.P. RUNTUBOI, TRI GUNAEDI, MARIA SIMONAPENDI, NADYA N.L. PAKPAHAN

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Cenderawasih, Jayapura, Papua

Diterima: 22 Agustus 2018 – Disetujui: 28 September 2018
© 2018 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Thermophilic bacteria are bacteria that are able to survive in environmental conditions with high temperatures. Thermophilic bacteria are one of the important sources of thermostable enzymes that can be isolated from geothermal environments such as hot springs with temperatures ranging from 50–80 °C. Aims of the study to isolate and identify local isolates of thermophilic bacteria from hot springs in Moso Muara Tami District, Papua. The results showed that 7 isolates (A1, A2, A3, A4, B1, B2, and B3) that were isolated and identified based on phenotypic characters were included in the genus *Bacillus*.

Key words: Thermophilic, characterization, isolation, identification, phenotypic.

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki sekurangnya 10 ribu jenis mikroorganisme terutama bakteri yang diperkirakan hidup secara alami (Kurnia, 2008). Perkembangan bioteknologi akhir-akhir ini khususnya bakteri telah digunakan untuk berbagai tujuan, misalnya sebagai agen penghasil protein dan enzim-enzim penting yang telah dimanfaatkan dunia, agen-agen dalam bioteknologi modern dan rekayasa genetik, agen pengendali hama dan penyakit, agen bioremediasi dan biodegradasi bahan pencemar. Bakteri termofilik merupakan salah satu penghasil enzim termostabil yang dapat diisolasi dari lingkungan *geothermal* seperti sumber air panas dan mampu hidup dengan suhu optimal berkisar antara 50–80 °C (Agustien, 2010; Zuridah *et al.*, 2011; Thieman & Michael, 20113). Enzim-enzim potensial telah

berhasil diidentifikasi dari bakteri termofilik seperti amylase, DNA polymerase, xylanase, kitinase, lipase dan protease (Dominguez *et al.*, 2005; Zang *et al.*, 2007; Bozoglu *et al.*, 2015; Scully & Orlygsson, 2015; Ladeira *et al.*, 2015).

Berbagai isolat lokal bakteri termofilik potensial di Indonesia telah diisolasi dan diidentifikasi dari beberapa sumber air panas antara lain di Pulau Jawa, Sumatera (Linawati, 2005; Agustini, 2006; Muharni, 2009; Agustien, 2010; Hastuti *et al.*, 2012) dan di Papua khususnya isolasi bakteri termofilik dari sumber air panas di Merauke (Runtuboi *et al.*, 2014; Patasik *et al.*, 2015). Papua memiliki beberapa sumber air panas selain di Merauke salah satunya di Moso (Perbatasan RI-PNG) dengan jarak 40 km dari Kota Jayapura, suhu pada permukaan sumber air panas di Moso berkisar 73 °C.

Peran enzim termostabil dalam bioteknologi modern dewasa ini sangat besar, maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi isolate-isolat lokal bakteri termofilik sebagai sumber enzim potensial khususnya di Papua yang belum banyak diteliti.

* Alamat korespondensi:

PS. Biologi, Jurusan Biologi, FMIPA Uncen. Jl. Kamp.
Wolker, Waena, Jayapura, Papua. Telp./fax.:
+62967572115. e-mail: diki_runtuboi@yahoo.com

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan selama 6 bulan, dimulai dari bulan Februari sampai Juli 2018 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA Universitas Cenderawasih. Sampel bakteri berasal dari sumber air panas Moso Distrik Muara Tami Kota Jayapura Papua yang merupakan koleksi Laboratorium Jurusan Biologi, Universitas Cenderawasih, Jayapura.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain Laminar Air Flow (LAF), inkubator, vortex, lemari pendingin, autoklaf, timbangan analitik, berbagai macam standar peralatan gelas, mikro pipet, pH meter, thermometer, serta peralatan penunjang lainnya. Bahan yang digunakan antara lain medium *Plate Count Agar* (PCA), *nutrient broth* (NB), media uji fisiologis, *Medium Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), medium Simmon's sitrat, medium semi solid, medium MR-VP broth, reagen pewarnaan Gram (Kristal violet, KI dan I₂, Aseton +EtOH, Safranin) pewarna endospora (*Malachite Green* dan Safranin).

Prosedur Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yakni isolasi, pengamatan makroskopis (karakteristik koloni), pengamatan mikroskopis (bentuk sel, sifat Gram dan spora) dan uji biokimia.

Isolasi Bakteri Termofilik

Sampel air panas diambil dari sumber air panas di Moso dengan menggunakan botol sampel steril sebanyak 100 ml dari 2 titik pengambilan dengan ulangan sebanyak 3 kali. Dilakukan pengukuran pH air dengan kertas pH universal dan pencatatan fisik air seperti: bau, rasa dan warna. Sampel air disimpan dalam termos dan dibawa langsung ke laboratorium untuk dianalisis sebelum 24 jam dari waktu pengambilan sampel. Selanjutnya dilakukan inokulasi pada Media PCA dan diinkubasi pada suhu 50 °C selama 24 jam (Krieg *et al.*, 2010; Patasik *et al.*, 2015; Bozoglu *et al.*, 2015). Koloni yang tumbuh diisolasi dan dikultur kembali untuk mendapatkan isolat murni. Identifikasi dilakukan dengan mengamati karakter makroskopis, mikroskopis dan karakteri biokimia yang meliputi krakter koloni, sifat Gram, spora, fermentasi karbohidrat (glukosa, laktosa, fruktosa, maltose) Produksi H₂S, produksi indol,

Tabel 1. Hasil pengamatan Karakteristik Makroskopis pada Media Padat PCA.

Isolat	Karakter					
	Ukuran	Bentuk Koloni	Elevasi	Permukaan	Margins	Warna
A1	Kecil	Bulat beraturan	Convex	Halus mengkilap	rata	Putih
A2	Kecil	Rizoid	Umbonate	Kasar	bergelombang	Putih
A3	Kecil	Iregular	Convex	Halus mengkilap	berlekuk	Putih
A4	Kecil	Irregular	Convex	Halus mengkilap	rata	Putih
B1	Kecil	Bulat beraturan	Convex	Halus mengkilap	rata	Kuning
B2	Sedang	Iregular	Umbonate	Berkerut	berlekuk	Putih
B3	Sedang	Iregular	Flat	Halus mengkilap	bergerigi	Putih

Tabel 2. Hasil Pengamatan Mikroskopis dan uji katalse.

No	Karakter	Isolat						
		A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3
1.	Bentuk sel batang	+	+	+	+	+	+	+
2.	Gram	+	+	+	+	+	+	+
4.	Endospora	+	+	+	+	+	+	+
5.	Katalase	+	-	+	-	+	+	+

produksi katalase, uji metil merah, uji Voges-Prokauer, Uji TSI dan Uji Simon's sitrat (Capucino & Sherman, 1992).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Sampel Air

Sampel air diperoleh dari dua titik koordinat yakni, I pada koordinat 2°40'36, 288" S dan 144°37'26,274"E, titik II diambil pada koordinat 2°40'36,60" S dan 140°57'26,082"E. Hasil pengamatan yang dilakukan terhadap parameter fisika menunjukkan bahwa suhu pada kedua titik pengambilan sampel tersebut sama, yaitu sekitar 73 °C. Pada lokasi tersebut aroma belerang dan lumpur yang sangat terasa, lumpur disekitar air panas tersebut hangat, warna air panas jernih (bening) dengan pH 6. Gambaran kondisi lingkungan tersebut merupakan habitat yang baik bagi bakteri termofilik. Bakteri termofilik tumbuh pada suhu 45-80 °C, bahkan ada yang mampu tumbuh hingga 100 °C. Menurut Lestari (2000), kemampuan bakteri termofilik untuk hidup pada kondisi suhu lingkungan yang tinggi disebabkan karena bakteri termofilik memiliki enzim-enzim

dan protein yang hampir semuanya stabil terhadap panas bila dibandingkan dengan bakteri mesofilik.

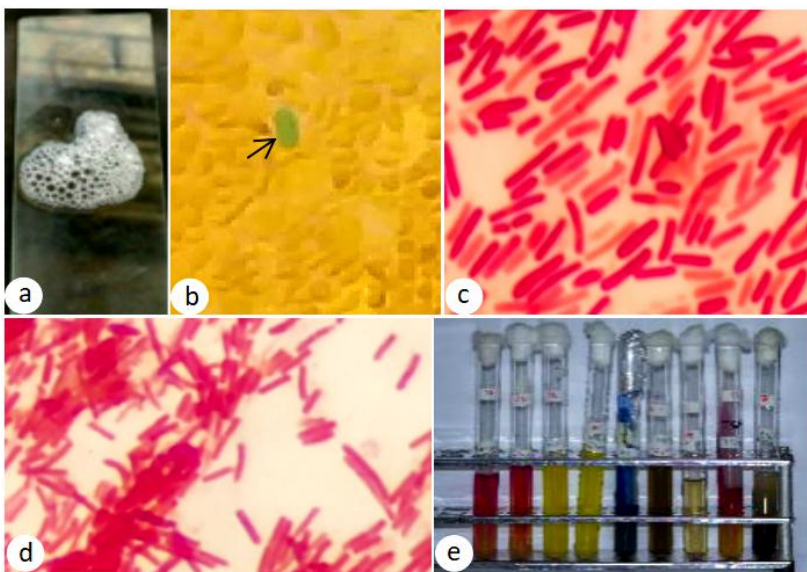
Isolasi dan Pengamatan Makroskopis

Hasil isolasi bakteri dari sumber air panas diperoleh 7 isolat dimana 4 isolat diperoleh dari titik I dan 3 isolat dari titik II. Isolat dari titik I diberi kode A (A1,A2, A3 dan A4), isolate dari titik II diberi kode B (B1, B2, dab B3). Pengamatan koloni pada kultur murni yang ditumbuhkan pada media padat *Plate Count Agar* (PCA) sangat bervariasi (Tabel 1).

Hasil Pengamatan Mikroskopis dan Sifat Katalase

Isolat-isolat bakteri tersebut selanjutnya diidentifikasi secara mikroskopis terhadap beberapa karakter seperti sifat Gram, bentuk sel, ada tidaknya endospore dan uji katalase (Tabel 2). Titik sumber air panas yang berbeda dapat mempengaruhi banyaknya jumlah isolat yang diperoleh sehingga mempengaruhi jumlah bakteri pada sumber air panas tersebut. Perbedaan jumlah isolat yang pada masing-masing titik dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan yang mendukung kehidupan bakteri. Faktor biotik yang terdapat pada lokasi pengambilan sampel diantaranya dedaunan yang gugur, rerumputan, lumut dan sumber organik lain yang menjadi sumber energi bagi mikroorganisme (Rahmadani *et al.*, 2015).

Sifat fisiologis bakteri termofilik terhadap berbagai uji yang diberikan, yaitu uji TSIA, SIM, SC, uji Gula-gula dan MRV ditunjukkan pada table 3. Hasil pengamatan uji TSIA dilakukan untuk menilai kemampuan bakteri dalam memfermentasi glukosa, laktosa dan sukrosa yang ditandai dengan perubahan warna akibat terbentuknya asam pada *slant* dan *butt* yang berwarna merah atau kuning, serta terbentuknya gas (H_2S). Dari 7 isolat yang telah diisolasi tersebut



Gambar 1. Karakteristik isolat bakteri. (a). Katalase Positif pada isolate A1, (b) adalah gambar spora pada isolate A3, (c) dan (d) adalah morfologi sel (bentuk batang) dan sifat gram + pada isolate B1 dan B2, (e) hasil uji biokimia pada isolate A4.

terlihat 2 isolat diantaranya yaitu isolat A2 dan A4 bersifat negatif atau tidak memfermentasi medium TSIA.

Uji SIM merupakan uji pada media semisolid yang digunakan untuk menilai adanya hidrogen sulfida, timbulnya indol akibat enzim tryptophanase yang ditandai dengan berubahnya larutan kovac menjadi merah dan ada tidaknya pergerakan. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa 2 isolate B1 dan B3 memiliki pergerakan dan memproduksi indol.

Hasil uji Sitrat digunakan untuk melihat kemampuan suatu bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai sumber utama metabolisme dan pertumbuhan. Hasil pengamatan memperlihatkan semua isolat (7 isolat) menggunakan sitrat sebagai sumber karbon untuk energi yang ditandai dengan adanya perubahan warna hijau menjadi biru karena penghilangan dan peningkatan pH pada media (Tuntun & Huda, 2014). Hasil uji gula-gula terlihat bahwa 7 isolat mampu memfermentasi glukosa dan maltose yang ditandai dengan adanya perubahan warna dari biru menjadi kuning sedangkan pada uji MRPV 7 isolat tidak dapat memfermentasi butanadiol (VP) dan Metil Red atau uji MRVP bersifat negatif.

Identifikasi Bakteri

Secara umum semua isolat memperlihatkan karakter fenotipik yang sangat bervariasi. Namun ada beberapa karakter umum yang

ditemukan pada ketujuh isolate yaitu bentuk sel batang dan endospore. Sifat tersebut merupakan karakter umum bakteri dari Genus *Bacillus*. Menurut Goldman & Green (2009) Genus *Bacillus* mewakili kelompok bakteri yang sangat luas dan beragam namun genus ini memiliki satu karakter umum yaitu kemampuan untuk mebentuk endospora dalam kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan. Genus ini dibagi kedalam beberapa kelompok besar berdasarkan bentuk sporanya, sifat biokimia dan pertumbuhannya. Morfologi bakteri termofilik genus *Bacillus* secara mikroskopis berbentuk basil/ batang tunggal atau berpasangan atau menyusun seperti filamen, diameter sel antara 0,4–1,8 µm dan panjang sel 0,9–10,0 µm, ada yang Gram positif dan Gram negatif, motil dan non motil, menghasilkan spora jika dikultur pada unsur hara yang sesuai, dapat atau tidak memfermentasi karbohidrat atau sukrosa (Tuntun & Huda, 2014). *Bacillus* sp mudah tumbuh pada media umum dan media yang diperkaya dengan sifat dan karakteristik yang sangat bervariasi, mulai dari bentuk koloni besar, melingkar, bergelombang, dengan tepi berombak, keriput atau bergelombang dan tekstur koloni yang halus dan kadang-kadang lembab, berlendir atau ada yang mengkilap (Noel *et al.*, 2010; Tuntun & Huda, 2014).

Tabel 3. Karakteristik Fisiologi (biokimia).

Nama uji	Kode isolat						
	A1	A2	A3	A4	B1	B2	B3
TSIA	m/k, g(-), H ₂ S(-)	m/m, g(-), H ₂ S(-)	m/k, g(-), H ₂ S(-)	m/m, g(-), H ₂ S(-)	m/k,g(-), H ₂ S(-)	m/k, g(-), H ₂ S (-)	m/k, g(-), H ₂ S(-)
SIM	---	---	---	---	-,+,+	---	-,+,+
SC	+	+	+	+	+	+	+
Glukosa	+	+	+	+	+	+	+
Laktosa	-	-	-	-	-	-	-
Sukrosa	+	+	+	+	+	+	+
Maltosa	+	+	+	+	+	+	+
MRVP	-	-	-	-	-	-	-

Ket.: - : negatif, +: positif, g: gas, m/k:merah/kuning, TSI: triple sugar Iron Agar, SC: Simmon Citrate, SIM: Sulfur Indol Motility, MR:Methyl Red, VP: Voges Proskouer.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini Identifikasi dilakukan berdasarkan karakter fenotipik dengan melihat karakteristik makroskopis, mikroskopis dan sifat biokimia sesuai penjelasan berdasarkan *Bergey Manual of Systematic Bacteriology Second Edition Volume Four* dimana dapat disimpulkan bahwa semua isolate (7 isolat) masuk kedalam genus *Bacillus*.

Untuk penelitian lanjutan diperlukan identifikasi hingga tingkat jenis dari berbagai isolat yang diperoleh. Disarankan bahwa perlu tindak lanjut karakterisasi uji seperti sifat pertumbuhan dalam berbagai media dan karakter biokimia lainnya yang belum tercakup dalam penelitian ini sehingga dapat dilakukan identifikasi secara taksonomi numerik. Metode lainnya adalah identifikasi secara molekuler berdasarkan gen 16S rRNA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Bapak Rollo atas kontribusinya memfasilitasi seluruh perjalanan untuk pengambilan sampel air panas di Moso. Terima kasih disampaikan kepada Bapak Kepala Kampung Moso yang telah memberi ijin pengambilan sampel air panas. Terima kasih kepada Saudara Illen Aninam atas kontribusinya mendampingi tim peneliti selama proses pengambilan sampel di lapangan dan analisis laboratorium. Terima kasih khususnya kepada Kepala Laboratorium Mikrobiologi Dr. Daniel Lantang, M.Kes. (Periode 2014-2018) yang telah memfasilitasi semua pekerjaan riset di laboratorium Mikrobiologi Universitas Cenderawasih.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustien, A. 2010. Isolasi dan optimasi *Bacillus* sp penghasil protease alkali dan keratinase termostabil serta aplikasinya. [Disertasi]. Universitas Padjadajaran. Bandung.
- Agustini, R. 2006. The utilization of thermophilic protease which life in hot spring Cangar Batu Malang. *Indo. J. Chem.* 6(2): 205-211.
- Bozoglu, C., H. Selin, B. Alayar, M. Karadayi, and M. Gullece. 2015. Isolation and molecular characterization of thermophilic bacteria with xylanase activity from thermal springs in Erzurum. *Jurnal of Life Sciences and Technologies.* 3(1): 32-36.
- Bozoglu, C., H. Selin, B. Alayar, M. Karadayi, and M. Gullece. 2015. Isolation and molecular characterization of thermophilic bacteria with xylanase activity from thermal springs in Erzurum. *Jurnal of Life Sciences and Technologies.* 3(1): 32-36.
- Cappuccino, J.G. and N. Sherman. 1992. *Microbiology a laboratory manual.* 3rd Edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California, USA.
- Dominguez, A., L. Pastrana, M.A.S. Longo, M.L. Rual, and M.A. Sanroman. 2005. Lipolytic enzyme productions by *Thermus thermophilus* HB27 in a stirred tank bioreactor. *Biochem. Eng. J.* 26 : 23.
- Goldman, E. and L.H. Green. 2009. *Practical handbook of microbiology 2th.* CRC Press Taylor & Francis Group. pp: 309-326.
- Hastuti, W., A. Agustien., and Nurmiati. 2012. Screening and characterization of amylo-thermophylic bacteria from Semurup hot springs, Kerinci, Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas.* 1(2): 150-155.
- Krieg, N.R., J.T. Staley, D.R. Brown, B.P. Hedlund, B.J. Paster, N.L. Ward, W. Ludwig and W.B. Whitman. 2010. *Bergey manual of systematic bacteriology.* Second Edition Volume Four. Springer. London.
- Kurnia, K. 2008. Menyelamatkan mikroorganisme Indonesia. *Kunia Organik Farming & Research.* Artikel lepas.
- Ladeira, S.A., C. Erica., A.B. Delatorre., J.B. Barbosa, and M.L. Martins. 2015. Cellulase production by thermophilic *Bacillus* sp. SMIA-2 and its detergent compatibility. *Electronik Journal of Biotechnology.* 18: 110-115.
- Lestari, P. 2000. Eksplorasi enzim termostabil dari mikro termofil. *Hayati.* 7: 21-25.
- Linawati, M.D. 2005. Identifikasi fragmen Gen 16S rRNA pada bakteri termofilik hasil isolasi dari sumber air panas Batu Raden. [Skripsi]. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Muharni. 2009. Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil kitinase dari sumber air panas Danau Ranau Sumatera Selatan. *Jurnal Penelitian Sains.* 9: 12-15.
- Noel, R.K., T. James., Staley., D.R. Brown., P. Brian. Hedlund., B.J. Paster., N.L. Ward, W. Ludwig and W.B. Whitman. 2010. *Bergey's manual of systematic bacteriology.* Second Edition. Volume Four. The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes. University of Georgia Athens, GA 30602-2605. USA.
- Patasik, I., D.Y.P Runtuboi., T. Gunaedi and Y. Ngili. 2015. Identification and characterization of thermophilic *Bacillus* sp with protease activity at the fragment of 16S rRNA gene of several hot springs in Merauke, Papua-Indonesia. *Der Pharma Chemica.* 7(7) : 1-10.

- Rahmadani, E.P., A. Agustien dan F.A. Febria. 2015. Isolasi dan karakterisasi bakteri amilotermofilik dari sumber air panas Sungan Medang. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 4(1): 119-122.
- Runtuboi, D., T. Gunaedi, V. Purnamasari., I. Patasik dan N. Uyo. 2014. Identifikasi *Bacillus* termofilik penghasil protease dari beberapa sumber air panas di Merauke Papua. *Prosiding Seminar Nasional Biologi di Jayapura*, 7-8 Oktober 2014, hal: 1-6.
- Scully, S.M and J. Orlygsson. 2015. Recent advances in second generation ethanol production by thermophilic bacteria. *Energies*. 8: 1-30.
- Thieman, W.J., and A.P. Michael. 2013. *Introduction to biotechnology*. Pearson. USA.
- Tuntun, M dan M. Huda. 2014. Isolasi dan identifikasi bakteri termofilik dari sumber air panas Way Panas Bumi Natar Lampung Selatan. *Jurnal Analisis Kesehatan*. 3(1): 297-304.
- Zhang, H., Z. Zhang, J. Li, and S. Cai. 2007. Effects of Mg²⁺ on supported bilayer membrane on a glassy carbon electrode during membrane formation. *International Journal of Electrochemical Science*. 2: 788-796.
- Zuridah, H., N. Norazwin, S.M Aisyah, M.N.A. Fakhruzzaman and N.A. Zaenathul. 2011. Identification of lipase producing thermophilic bacteria from Malaysian hot springs. *African Journal of Microbiology Research*. 5(21): 3569-3573.