

Compatibility Test of the Biculture Consortium of Thermophilic Bacteria from Mudiak Sapan Hot

Uji Kompatibilitas terhadap Konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan

Fahra¹⁾, I. Irdawati,¹⁾ Dezi Handayani¹⁾, Dwi Hilda Putri¹⁾, Linda Advinda¹⁾, Azwir Anhar¹⁾

¹ Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: irdawati.amor40@gmail.com

Abstract

Thermophilic bacteria are bacteria that are resistant to hot temperatures and have several other advantages in producing industrial fields. Bacteria also exist in the form of a mixture (consortium) where the bacteria work together to produce enzymes. This study aims to examine the compatibility of thermophilic bacterial isolates. This research is descriptive in nature using the Spread Plate Method. The results showed that the thermophilic bacterial isolates tested (MS 9, MS 12, MS 18 and MS 17) and all their compatible partners were seen with no inhibition zones.

Keywords : Biofuel, thermophilic bacteria, compatibility test.

Bakteri termofilik adalah bakteri yang tahan terhadap suhu panas dan memiliki beberapa keunggulan lainnya dalam menghasilkan bidang industri. Bakteri juga ada dalam bentuk campuran (konsorsium) dimana bakteri saling bekerja sama untuk menghasilkan enzim. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kompatibilitas isolat bakteri termofilik. Penelitian ini bersifat deskriptif menggunakan *Spread Plate Method* (metode sebar/tebar). Hasilnya isolat bakteri termofilik yang diuji (MS 9, MS 12, MS 18 dan MS 17) beserta semua pasangannya kompatibel terlihat dengan tidak adanya zona hambat.

Kata kunci : *Biofuel, bakteri termofilik, uji kompatibilitas.*

Pendahuluan

Salah satu mikroorganisme yang digunakan adalah bakteri termofilik yang merupakan mikroba yang potensial memproduksi enzim serta stabil terhadap panas atau termostabil dan memiliki banyak keuntungan dalam bidang industri (Fifendi *et al.*, 2015). Diantaranya yaitu: kontaminasi yang dihasilkan rendah, produk yang dihasilkan lebih tinggi, dan suplai energi untuk pemisahan produk lebih rendah. Pengisolasian bakteri termofilik dari berbagai habitat dengan tujuan penggunaan bakteri dan enzim termostabil yang dihasilkan dari bakteri untuk diterapkan dalam dunia industri semakin intensif (Madigan *et al.*, 2000). Sebagai contoh pemanfaatan bakteri termofilik MS 18 Solok Selatan sebagai bahan pemutih kain (Nisa *et al.*, 2022).

Bakteri ini dapat ditemukan pada berbagai tempat di alam seperti sumber air panas, daerah aktivitas gunung berapi maupun sumber mata air panas di dasar laut (Sianturi, 2008). Salah satunya adalah sumber air panas Mudiak Sapan yang terdapat di Kabupaten Solok Selatan, Jorong Balun, Nagari Pakan Rabaa, Kecamatan Koto Parik Gadang di Ateh. Sumber air panas ini memiliki suhu 93°C dengan pH 8 dengan beberapa vegetasi yang tumbuh di sekitarnya. Vegetasi yang dominan hidup di dekat sumber air panas ini berupa rumput-rumputan. Jenis vegetasi yang berada di sekitar sumber air panas mempengaruhi karakteristik profil pertumbuhan dari jenis isolat yang ditemukan (Irdawati *et*

al., 2016). Dengan jumlah isolat bakteri termofilik yang ditemukan sebanyak 19 isolat (18 isolat berbentuk basil relatif Gram positif dan 1 isolat berbentuk gram negatif basil) (Irdawati *et al.*, 2018).

Agusri (2022) menggunakan bakteri termofilik dari sumber air panas mudiak sapan untuk menguji bakteri termofilik secara monokultur dalam menghasilkan biofuel dan terbukti bahwa bakteri ini dapat menghasilkan biofuel.

Di alam bakteri tidak hanya dalam bentuk tunggal namun juga ada dalam bentuk campuran yang disebut konsorsium. Dengan menggunakan konsorsium bakteri yang dihasilkan lebih baik dibandingkan dengan menggunakan isolat tunggal (monokultur) (Komarawidjaja, 2009). Konsorsium adalah kombinasi kultur murni yang disebut sebagai inokulum campuran. Konsorsium bakteri merupakan kumpulan dari sejumlah organisme yang sejenis hingga membentuk suatu komunitas dari sejumlah populasi yang berbeda (Nugroho *et al.*, 2010). Dalam konsorsium tersebut tentu ada interaksi-interaksi antar mikroorganisme yang bersifat menguntungkan dan merugikan (Millati, 2018). Kompatibilitas merupakan kumpulan dua atau lebih bakteri yang bekerja sama membentuk suatu komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal dan mutualistik. Anggota komunitas yang mempunyai hubungan akan berasosiasi, sehingga lebih berhasil mendegradasi senyawa kimia dibandingkan isolat tunggal (Jovanita, Advinda.2022). Penelitian ini bertujuan untuk menguji tingkat kerja sama isolat bakteri termofilik yang akan digunakan untuk menghasilkan biofuel.

Bahan dan Metode

Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari bulan November 2022- Januari 2023 di Laboratorium Biologi Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah batang pengaduk, ose, cawan petri, erlenmeyer, inkubator, wrapping, autoklaf, tabung reaksi, gelas ukur, mikropipet dan alat tulis. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri termofilik MS 9, MS 12, MS 18 dan MS 17; *nutrient agar* (NA), aquadest, paper disk, tisu dan alkohol 70%.

Sterilisasi Alat

Sebelum disterilisasi, alat-alat yang akan kita gunakan dicuci bersih terlebih dahulu dan dikeringkan. Kemudian dibungkus dengan kertas. Untuk gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, dibungkus menggunakan plastik. Sterilisasi dilakukan dengan autoclave pada suhu 121°C dan tekanan 15 atm selama 15 menit.. Untuk alat yang tidak tahan panas tinggi disterilisasi dengan api bunsen dan alkohol 70%.

Prosedur Penelitian

Regenerasi isolat murni bakteri termofilik

4 Isolat bakteri termofilik penghasil biofuel tertinggi dari penelitian (Agusri, 2022) (MS 9, MS 12, MS 18 dan MS 17) diregenerasi ke dalam agar miring *Nutrient Agar* secara triplo dan diinkubasi pada suhu 50° C selama 2-4 hari. Regenerasi dilakukan dengan metode gores (*streak plate*).

Larutan Mc Farland

Larutan Mc Farland adalah peyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Larutan Mc Farland yang digunakan adalah skala satu dibuat dengan mencampurkan larutan 1,175% BaCl₂ dan larutan 1% H₂SO₄.

Uji Kompatibilitas

Uji Kompatibilitas dilakukan menggunakan *Spread Plate Method* (metode sebar/tebar) dengan menggunakan medium *Nutrient Agar* (Na) yang dituang pada cawan petri dan dibuat triplo. Uji kompatibilitas isolat bakteri termofilik MS 9 dan MS 12 dilakukan dengan cara: mengambil 1 ml suspensi MS 12 kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi aquades steril dan disesuaikan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland skala 1. Selanjutnya dituangkan ke dalam petri yang berisi medium NA dan disebar dengan *spreader*. Selanjutnya diambil 4 lembar kertas cakram steril yang sebelumnya di tetesi dengan 0,1 ml suspensi bakteri MS 9. Keempat kertas cakram di letakkan pada medium yang telah diinokulasikan suspensi bakteri MS 12 dan diinkubasi selama 24 jam pada inkubator suhu 50° C. Prosedur yang sama dilakukan pada isolat bakteri termofilik lainnya.

Analisis Data

Data hasil uji kompatibilitas bakteri termofilik dari sumber air panas Mudiak Sapan dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel.

Hasil dan Pembahasan

Kehidupan bakteri dipengaruhi banyak faktor baik dari faktor abiotik maupun faktor biotik. Dimana faktor biotik terdiri dari makhluk-makhluk hidup, yang mencakup asosiasi atau kehidupan bersama antara mikroorganisme baik dalam bentuk simbiose, sinergisme, antibiose, dan sintropisme. Sedangkan faktor abiotik terdiri dari suhu, pH, kelembapan, dll (Hadioetomo, 1982). Adanya kompatibilitas atau sinergisme dari dua bakteri atau lebih merupakan faktor yang penting agar bakteri dapat bekerjasama dengan baik (Asri dan Zulaika, 2016).

Konsorsium bakteri yang baik terbentuk secara alamiah maupun buatan memiliki kelebihan yaitu memiliki fungsi metabolisme yang saling melengkapi dalam suatu ekosistem (Rifai *et al.*, 2020). Suatu konsorsium akan menghasilkan produk yang dapat dimanfaatkan bersama sehingga saling mendukung pertumbuhan isolat tunggal dan lainnya. Kompatibilitas bakteri adalah asosiasi antara dua spesies atau genus bakteri yang tidak saling mengganggu satu dengan yang lainnya, tetapi kegiatan masing-masing spesies atau genus saling menguntungkan dan berbagi sumber nutrisi yang sama dalam media hidup yang sama (Asri dan Zulaika, 2016). Penggunaan bakteri yang kompatibel memberikan hasil yang lebih baik dari pada isolat tunggal karena kerja enzim dari tiap jenis bakteri dapat saling melengkapi, sehingga bisa bertahan hidup menggunakan sumber nutrisi yang sama dalam media biakan (Siahaan *et al.*, 2013).

Hasil dari uji kompatibilitas yang dilakukan pada 4 isolat bakteri termofilik dari sumber air panas Mudiak Sapan dengan kombinasi 6 pasangan adalah compatible (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Kompatibilitas Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan

Pasangan MS	Pembentukan Zona Hambat	Hasil
MS 9 dan MS 18	-	Kompatibel
MS 9 dan MS 12	-	Kompatibel
MS 9 dan MS 17	-	Kompatibel
MS 18 dan MS 12	-	Kompatibel
MS 18 dan MS 17	-	Kompatibel
MS 17 dan MS 12	-	Kompatibel

Kultur bakteri yang akan digunakan sebagai konsorsium harus kompatibel sehingga semua enzim yang diperlukan dalam proses degradasi limbah organik (makanan) dapat dihasilkan dengan baik. Kombinasi empat isolat bakteri dengan kemampuan enzimatis diujikan dengan uji antagonisme (Fitriasari *et al.*, 2020). Isolat bakteri yang menunjukkan adanya aktivitas antagonisme ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat yang terlihat antar isolat. Sedangkan isolat antar jenis bakteri dikatakan kompatibel apabila tidak terdapat zona hambat pada daerah pertemuan kedua isolat dan dapat dikatakan sinergisme (Rifai *et al.*, 2020).

Bakteri dengan genus atau spesies yang sama dapat berinteraksi dan bersinergi, serta berbagi sumber nutrisi yang sama. Hal ini menunjukkan perilaku kooperatif antar bakteri dalam suatu habitat dalam bentuk konsorsium. Suatu konsorsium akan menghasilkan produk yang dapat dimanfaatkan bersama, sehingga dapat saling mendukung pertumbuhan isolat tunggal dan lainnya (Rifai *et al.*, 2020). Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium masih belum diketahui dengan pasti, namun beberapa penelitian menduga disebabkan karena beberapa faktor antara lain: (1) salah satu anggota genus mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota genus yang lain, (2) salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut, (3) salah satu anggota genus melindungi anggota genus lain yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik (Asri dan Zulaika, 2016).

Daftar Pustaka

- Asri AC & Zulaika E. 2016. Sinergisme Antar Isolat Azotobacter yang Dikonsorsiumkan. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 5(2): 2337-3520.
- Fitriasari, P. D., Amalia, N., & Farkhiyah, S. (2020). Isolasi dan uji kompatibilitas bakteri hidrolitik dari tanah tempat pemrosesan akhir Talangagung, Kabupaten Malang. *Berita Biologi*, 19(1), 151-156.
- Fifendy, M., Irdawati, I., & Yenti, N. 2015. Penapisan bakteri termofilik penghasil enzim amilase dari sumber air panas sapan sungai aro Kabupaten Solok Selatan. *Eksakta Berkala Ilmiah Bidang MIPA*, 1, 73-81.
- Hadioetomo, Sri Ratna. 1982. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia.
- Irdawati, I., Syamsuardi, S., Agustien, A., & Alberida, H. 2016. Profil Pertumbuhan Bakteri Termofilik Penghasil Xylanase Alkali dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan, Solok Selatan. In: *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan dan Sains Biologi* 2, 19, 25, dan 26 November, Bengkulu.
- Irdawati, I., Syamsuardi, S., Agustien, A., & Rilda, Y. 2018. Screening of Thermophilic Bacteria Produce Xylanase from Sapan Sungai Aro Hot Spring South Solok. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 335, No. 1, p. 012021). IOP Publishing.
- Jovanita, L., & Advinda, L. 2022. Compatibility Test of Fluorescent Pseudomonad Isolated from Plant Rhizosphere. *Jurnal Serambi Biologi*, 7(1), 65-69.
- Komarawidjaja, W. & Lysiasuti, E. 2009. Status konsorsium mikroba lokal pendegradasi minyak. *Jurnal Teknologi Lingkungan*, 10(3): 347-354.
- Madigan, M.T.J., M. Martinko, and J. Parker. 2000. *Biology of Microorganisms. The 9 th Ed*. Prentice Hall International, Inc. New Jersey
- M. J. Bailey, A. K. Lilley, T. M. Timms-Wilson, dan T. M. Spencer Phillips. 2006. Microbial ecology of aerial plant surface, United Kingdom: *CABI International*
- Millati, G. Z. 2018. *Laporan Kerja Praktek Penggunaan Uji Kompatibilitas 7 Isolat LOB dengan Pseudomonas fluorescens PF32 Menggunakan Metode CrossStreak dan Kirby-Bauer Dimodifikasi*. Program Studi Mikrobiologi, Institut Teknologi Bandung.
- Nisa, N. S., Irdawati, I., Putri, D. H., Handayani, D., & Yusrizal, Y. 2022. Potential Of Thermophic Bacterial Xilanase As Environmentally Friendly Fabric Bleach. *Jurnal Serambi Biologi*, 7(1), 35-43.
- Nugroho, C. dan Hidayah. 2010. Penyisihan Logam Chrom Menggunakan Konsorsium Mikroorganisme. *Ilmiah Teknik Lingkungan*. 1: 16-19.
- Ridha Agusri. 2022. Optimasi Suhu Bakteri Termofilik Dalam Menghasilkan Bioetanol Sebagai Biofuel. *Skripsi*. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Rifai MR, Widowati H & Susanto A. 2020. Sinergisme dan Antagonisme Beberapa Jenis Isolat Bakteri yang Dikonsorsiumkan. *BIOLOVA*. 1(1): 21-26.
- Siahaan S, Hutapea M & Hasibuan R. 2013. Penentuan Kondisi Optimum Suhu dan Waktu Karbonasi pada Pembuatan Arang dari Sekam Padi. *Jurnal Teknik Kimia*. 2(1):1-6
- Sianturi, D.C. 2008. *Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara*. Tesis. USU Medan.
- Y. Deng, dan S. Y. Wang. 2016. Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity, *J Microbiol*. 54(1): 23 - 30