



Synergism Study of the Alkalo Bacterial Biculture Consortium Thermophilic from Sapan River Aro Hot Springs

Kajian Sinergisme Konsorsium Bikultur Bakteri Alkalo Termofilik dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro

Mochammad Asshydiqie Syadza Althaf¹, Irdawati, Linda Advinda^{1*}

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

*Correspondence author: irdawati.amor40@gmail.com

Abstract

Thermophilic bacteria are microbes that have the potential to produce heat-stable or thermostable enzymes ranging from 45-70 °C. So that thermophilic bacteria have a number of advantages in their use in the industrial sector which generally uses high temperatures. This study aims to examine the compatibility of thermophilic bacterial isolates. This research is descriptive using the pouring method (*Pour Plate Method*). The results showed that the thermophilic bacterial isolates tested (SSA- 8, SSA- 16, SSA- 14, SSA- 1, SSA-3 dan SSA- 12) and all their compatible partners were seen with no inhibition zones.

Keywords : *Biofuel, thermophilic bacteria, compatibility test.*

Abstrak

Bakteri termofilik merupakan mikroba yang potensial memproduksi enzim yang stabil terhadap panas atau termostabil berkisar antara 45-70 °C. Sehingga bakteri termofilik memiliki sejumlah keuntungan dalam penggunaannya di bidang industri yang pada umumnya menggunakan suhu tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji kompatibilitas isolat bakteri termofilik. Penelitian ini bersifat deskriptif menggunakan metode tuang (*Pour Plate Method*). Hasilnya isolat bakteri termofilik yang diuji (SSA- 8, SSA- 16, SSA- 14, SSA- 1, SSA-3 dan SSA- 12) beserta semua pasangannya kompatibel terlihat dengan tidak adanya zona hambat.

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

Pendahuluan

Salah satu jenis bakteri ekstermofil adalah bakteri termofilik (Agustien, 2010). Bakteri termofilik merupakan mikroba yang potensial memproduksi enzim yang stabil terhadap panas atau termostabil. Bakteri termofilik stabil terhadap suhu yang panas berkisar antara 45-70 °C (Sugiyono *et al.*, 2004). Bakteri termofilik dapat ditemukan pada berbagai tempat di alam, seperti di sumber-sumber air panas, daerah aktifitas gunung berapi, maupun di dasar laut yang memiliki sumber mata air panas (Sianturi, 2008). Irdawati (2012) mengambil bakteri termofilik dari sumber air panas Rimbo Panti. Beberapa tahun selanjutnya, Irdawati (2016) mengisolasi bakteri termofilik dari sumber air panas Mudiak Sapan. Isolasi enzim termostabil dari organisme termofilik memiliki sejumlah keuntungan dalam penggunaannya di bidang industri yang pada umumnya menggunakan suhu tinggi. (Irdawati *et al.*, 2015).

Keuntungan lainnya dari bakteri ini adalah memiliki protein yang mampu bekerja dalam kondisi lingkungan yang memiliki suhu tinggi dimana protein/enzim lain dapat mengalami denaturasi (Sugiyono *et al.*, 2004). Kemampuan

bakteri termofilik untuk tumbuh hanya pada suhu yang sangat tinggi ini memerlukan mekanisme molekuler khusus untuk adaptasi terhadap suhu tinggi. Jadi, sebagai konsekuensi dari evolusi dan pertumbuhan molekuler pada suhu tinggi, bakteri termofilik memiliki sifat metabolisme dan enzimatis yang unik (Zeikus, 1979). Bakteri SSA adalah bakteri yang bersifat termofilik yang berasal dari Sumber air panas Sapan Sungai Aro Solok Selatan memiliki suhu 75°C dan pH 8 atau bersifat basa (Irdawati, 2021).

Bakteri yang di alam tidak hanya dalam bentuk tunggal/monokultur, namun juga dalam bentuk campuran/konsorsium (Komarawidjaja, 2009). Konsorsium bakteri merupakan kumpulan bakteri yang bekerja sama membentuk suatu komunitas, untuk menghasilkan produk yang signifikan (Arora, 2015). Konsorsium mikroba ditemukan berlimpah di alam, misalnya, di tanah (Van *et al.*, 2008), ekosistem perairan (Paerl *et al.*, 1996), makanan (Montel *et al.*, 2014), dan limbah biologis (Bayer *et al.*, 2007). Penggunaan konsorsium mikroba cenderung memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penggunaan isolat tunggal, karena diharapkan kerja enzim dari tiap jenis mikroba dapat saling melengkapi untuk dapat bertahan hidup menggunakan sumber nutrisi yang tersedia dalam media pembawa tersebut (Siahaan *et al.*, 2013).

Adanya sinergisme atau kompatibilitas dari dua bakteri atau lebih yang diinokulasikan merupakan faktor yang sangat penting supaya bakteri tersebut dapat bekerjasama dengan baik (Elfiati, 2005). 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 (Bailey *et al.*, 2006).

Bahan dan Metode

Lokasi Penelitian

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

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 SSA- 8, SSA- 16, SSA- 14, SSA- 1, SSA-3 dan SSA- 12; *nutrient agar* (NA), *aquadest*, *paper disk*, *tissue* dan alkohol 70%.

Sterilisasi Alat

Sebelum disterilisasi, alat-alat yang akan digunakan dicuci hingga bersih dan dikeringkan. Kemudian dibungkus menggunakan 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

6 Isolat bakteri termofilik terbaik dari penelitian (Vaizi, 2022) (SSA- 8, SSA- 16, SSA- 14, SSA- 1, SSA-3 dan SSA- 12) diregenerasi ke dalam agar miring *Nutrient Agar* secara triplo dan diinkubasi pada suhu 50° C selama 2-4 hari. Regenerasi dilakukan dengan metode tuang (*Pour Plate Method*)

Larutan Mc Farland

Larutan Mc Farland merupakan peyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1%. Standar kekeruhan Mc Farland ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu serta 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 metode tuang (*pour plate method*) dengan menggunakan medium *Nutrient Agar* (Na) yang dituang pada cawan petri dan dibuat triplo. Uji kompatibilitas isolat bakteri termofilik SSA- 14 dan SSA- 6 dilakukan dengan cara: mengambil 1 ml suspensi SSA- 14 kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi aquades steril dan disesuaikan kekeruhannya dengan larutan Mc Farland skala 1. Selanjutnya suspensi bakteri dituangkan ke dalam petri kosong, kemudian dituangkan medium NA. Petri digerakan secara memutar, agar suspensi dan medium NA homogen. Selanjutnya diambil 4 lembar kertas cakram steril yang sebelumnya di tetesi dengan 0,1 ml

suspensi bakteri SSA- 6. Keempat kertas cakram di letakkan pada medium yang telah diinokulasikan suspensi bakteri SSA- 14 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 Sapan Sungai Aro dianalisis secara deskriptif dan ditampilkan dalam bentuk tabel.

Hasil dan Pembahasan

Konsorsium bakteri merupakan kumpulan dari dua atau lebih bakteri yang membentuk suatu komunitas dari genus yang berbeda. Penggunaan konsorsium bakteri hasilnya lebih baik, dibandingkan dengan menggunakan isolat tunggal. Enzim yang bekerja pada bakteri konsorsium memungkinkan kerjasama penggunaan nutrisi yang tersedia untuk bertahan hidup (Komarawidjaja, 2009). Kultur bakteri yang digunakan sebagai konsorsium harus kompatibel (Fitriasari *et al.*, 2020). Sinergisme/kompatibilitas merupakan kumpulan dua atau lebih bakteri yang bekerja sama membentuk suatu komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif, komensal dan mutualistik. (Jovanita *et al.*, 2022). Uji sinergisme/kompatibilitas diperlukan agar bakteri yang digunakan tidak saling meniadakan karena memiliki sifat antagonis satu sama lainnya (Ernawati, 2020).

Hasil dari uji sinergis/kompatibilitas yang dilakukan pada 6 isolat bakteri termofilik dari sumber air panas Sapan Sungai Aro dengan kombinasi 6 pasangan adalah kompatibel (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Uji Kompatibilias Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro

Pasangan SSA	Pembentukan Zona Hambat	Hasil
SSA-14 dan SSA-6	-	Kompatibel
SSA-1 dan SSA-6	-	Kompatibel
SSA 3 dan SSA-6	-	Kompatibel
SSA-8 dan SSA-12	-	Kompatibel
SSA-16 dan SSA-12	-	Kompatibel
SSA-14 dan SSA-12	-	Kompatibel

Hasil menunjukkan bahwa keenam isolat tersebut bersinergi secara positif yang terlihat dari tidak terbentuknya zona hambat (Tabel 1). Uji sinergisme adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui interaksi positif antara dua atau lebih bakteri yang hidup bersama dan menggunakan sumber nutrisi yang sama. Uji sinergisme dilakukan sebelum pembuatan konsorsium (Safitri, 2019). Uji sinergisme atau kompatibel dilakukan untuk mengetahui bakteri yang digunakan sebagai agen biokontrol dapat digunakan secara tunggal atau konsorsium dan tidak saling menekan satu sama lain (Suryanto *et al.* 2014). Adanya kompatibilitas atau sinergisme dari kedua bakteri potensial atau lebih yang akan dijadikan sebagai agen biofertilizer atau diinokulasikan ke tanaman target merupakan faktor yang penting agar bakteri yang diaplikasikan dapat hidup dengan baik.

Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium disebabkan oleh beberapa faktor diantaranya: (1) salah satu dari genus bakteri mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh bakteri lainnya, (2) Genus bakteri yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada produk bahan organik yang telah didegradasi oleh genus bakteri lainnya, (3) Genus bakteri mampu melindungi genus bakteri lainnya yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik yaitu menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik (Deng *et al.*, 2016).

Pasangan isolat bakteri bersifat kompatibel apabila tidak terbentuk zona bening (Munif *et al.*, 2019). Ditandai dengan tidak ada satupun bakteri yang menghambat pertumbuhan bakteri lainnya (Silitonga, 2013). Kompatibilitas bakteri penting untuk dilakukan sebelum menggabungkan beberapa isolat dalam satu media tumbuh. Bakteri yang kompatibel dapat hidup bersama, sedangkan bakteri yang tidak kompatibel akan menekan pertumbuhan bakteri lainnya yang tumbuh dalam satu media yang sama (Fitriatin *et al.*, 2020). Elfiati (2004) menyatakan bahwa, adanya kompatibilitas atau sinergisme dari dua bakteri yang diinokulasikan merupakan faktor yang sangat penting agar kedua bakteri tersebut dapat berfungsi dengan baik.



Daftar Pustaka

- A. Munif, S. Supramana, E. N. Herliyana, dan A. P. Pradana, 2019. Endophytic Bacterial Consortium Originated from Forestry Plant Roots and Their Nematicidal Activity Against *Meloidogyne incognita* Infestation in Greenhouse. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 67(5) : 1171-1182.
- Agustien, A. 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. Bandung : UNPAD PRESS.
- B. N. Fitriatin, D. F. Manurung, E. T. Sofyan, dan M. R. Setiawati. 2020. Compatibility, Phosphate Solubility and Phosphatase Activity by Phosphate Solubilizing Bacteria. *Haya: The Saudi Journal of Life Sciences*. 5(12) : 281-284.
- Bayer, E. A., Lamed, R., & Himmel, M. E. 2007. The Potential of Cellulases and Cellulosomes for Cellulosic Waste Management. *Current Opinion in Biotechnology*. 18(3) : 237-245.
- D. Elfiati. 2005. *Peranan Mikroba Pelarut Fosfat Terhadap Pertumbuhan Tanaman*. Medan : USU.
- Deng, Y. and S.Y. Wang. 2016. Synergistic growth in bacteria depends on substrate complexity. *J. Microbiol*. 54(1) : 23-30.
- Ernawati, E., & Advinda, L. 2020. The Role of Several Compatibel Bacteria to increase the height accretion of *Lycopersicon esculentum* Mill. *Serambi Biologi*. 5(1).
- 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.
- Irdawati, I. 2021. The Activity Xylanase Enzyme Thermophilic Bacteria SSA 2 in Starter Variation. *Serambi Biologi*. 6(1) : 18.
- Irdawati, I., Syamsuardi, S., Agustien, A., & Alberida, H. 2016. Profil Pertumbuhan Bakteri Termofilik Penghasil Xylanase Alkali dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan, Solok Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Pendidikan dan Sains Biologi 2*.
- Irdawati, Mades Fifendy, dan Nofri Yenti. 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan. *Jurnal Eksakta*. 1 : 74.
- Irdawati. 2012. Isolasi bakteri Termofilik Penghasil Amilase dari Sumber Air Panas Rimbo Panti Pasaman. *Prosiding Seminar Nasional*. Medan.
- J.G. Zeikus. 1979. Thermophilic Bacteria: Ecology, Physiology and Technology. *Enzyme and Microbial Technology*. 1(4) : 243.
- Jovanita, L., & Advinda, L. 2022. Compatibility Test of Fluorescent Pseudomonad Isolated from Plant Rhizosphere. *Jurnal Serambi Biologi*. 7(1) : 65-69.
- Komarawidjaja, W., dan Esi Lysiasuti. 2009. Status Konsorsium Mikroba Lokal Pendegredasi Minyak. *Jurnal Teknik Lingkungan*. 10(3) : 348.
- M. J. Bailey, A. K. Lilley, T. M. Timms -Wilson, and T. M. Spencer -Phillips. 2006. *Microbial Ecology of Aerial Plant Surface*. United Kingdom: CABInternational.
- Montel, M. C., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-Paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N., and Berthier, F. 2014. Traditional Cheeses: Rich and Diverse Microbiota with Associated Benefits. *International Journal of Food Microbiology*. 177 : 136-154.
- N. K. Arora. 2015. *Plant microbes symbiosis: Applied facets*. India: Springer.
- Paerl, H. W., & Pinckney, J. L. 1996. A mini-review of Microbial Consortia: Their Roles in Aquatic Production and Biogeochemical Cycling. *Microbial Ecology*. 31(3) : 225-247.



- S. Siahaan, M. Hutapea, dan R. Hasibuan. 2013. Penentuan Kondisi Optimum Suhu dan Waktu Karbonasi pada Pembuatan Arang dari Sekam Padi. *Jurnal Teknik Kimia USU*. 2(1) : 26-30.
- Safitri, R. N., Shovitri, M., & Hidayat, H. 2019. Potensi bakteri koleksi sebagai biofertilizer. *Jurnal Sains dan Seni ITS*. 7(2) : 53-56.
- Sianturi, D.C. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibirubiru Sumatera Utara. *Tesis* : USU Medan.
- Silitonga, D. M., Priyani, N., & Nurwahyuni, I. 2013. Isolasi dan Uji Potensi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (Indole Acetic Acid) terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glycine max* L.) pada Tanah Kuning. *Saintia Biologi*. 1(2) : 35-41.
- Sugiyono, L., A.J. Rosita, dan R.A. Sabe. 2004. Penapisan dan Karakteristik Protease Bakteri Termofilik Asal Mata Air Laut Panas Poso Sulawesi Tengah. *Jurnal Penelitian Sains*. (3) : 49-55.
- Suryanto, D., Asril, M., Munir, E. and Kardhinata, E.H. 2014. Assay of Antagonistic Bacteria of Single Isolates and Combination to Control Seedling-off in Chili Seed Caused by *Fusarium oxysporium*. *J. of Pure & Applied Microbiology*. 8 (Spl. Edn. 2), 645-650.
- Vaizi, Nur. 2022. Potensi Bakteri Termofilik dalam Menghasilkan Bioetanol pada Variasi pH Inkubasi. *Skripsi*. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Van Der Heijden, M. G., Bardgett, R. D., & Van Straalen, N. M. 2008. The Unseen Majority : Soil Microbes as Drivers of Plant Diversity and Productivity in Terrestrial Ecosystems. *Ecology Letters*. 11(3) : 296-310.