

Growth Pattern of Thermophilic Bacterial Isolate SSA-16 from Sapan Sungai Aro Hot Springs

Pola Pertumbuhan Isolat Bakteri Termofilik SSA-16 dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro

Donny Suherman¹, Irdawati^{1*}, Richard Samea Andrian¹

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 a group of microorganisms that grow optimally at temperatures of more than 45°C and the general growth range is between 45°C to 80°C. To determine the growth pattern of thermophilic bacteria originating from the Sapan Sungai Aro hot springs, isolate SSA-16 was carried out by measuring the level of bacterial turbidity. The method used in this research is a descriptive approach using two replications (duplo). The isolate that is the focus is SSA-16. Bacteria were incubated for 24 hours at 2 hour intervals at a temperature of 50°C and their growth was measured using a UV-Vis Spectrophotometer with a wavelength of 600 nm. The OD value is measured on a scale of 0 to 2. From the results of the tests that have been carried out, the results of the Optical Density (OD) test to see the growth pattern of SSA-16 bacterial isolates using a UV-Vis spectrophotometer (600 nm) through several phases. The first phase is the lag phase which occurs from the 2nd to the 6th hour, the second is the exponential phase which occurs from the 8th to the 14th hour and reaches the highest average of 0.706 and in the next hour the bacterial growth is at the Stationary or bacterial growth can be declared stagnant.

Key words: *Thermophilic bacteria, SSA-16 isolate, Optical Density (OD)*

Abstrak

Bakteri termofilik merupakan kelompok mikroorganisme yang tumbuh optimal pada suhu lebih dari 45°C dan kisaran umum pertumbuhan antara 45°C sampai 80°C. Untuk mengetahui pola pertumbuhan bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Sapan Sungai Aro isolat SSA-16 dilakukan dengan mengukur tingkat kekeruhan bakteri. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan deskriptif dengan menggunakan dua ulangan (duplo) Isolat yang menjadi fokus adalah SSA-16. Bakteri diinkubasi selama 24 jam dengan interval 2 jam pada suhu 50°C dan diukur pertumbuhannya menggunakan *Spektrofotometer UV-Vis* dengan panjang gelombang 600 nm. Nilai OD diukur dengan skala 0 hingga 2, Dari hasil pengujian yang telah dilakukan, dapat dilihat hasil uji *Optical Density* (OD) untuk melihat pola pertumbuhan isolat bakteri SSA-16 dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm) melewati beberapa fase. Fase pertama yaitu fase lag yang terjadi pada jam ke-2 sampai jam ke-6, yang kedua yaitu fase eksponensial terjadi pada jam ke-8 sampai jam ke-14 dengan mencapai rata-rata tertinggi 0,706 dan pada jam berikutnya pertumbuhan bakteri berada pada fase stasioner atau pertumbuhan bakteri dapat dinyatakan stagnan.

Kata kunci: *Bakteri termofilik, Isolat SSA-16, Optical Density (OD)*

Pendahuluan

Bakteri termofilik merupakan kelompok mikroorganisme yang tumbuh optimal pada suhu lebih dari 45°C dan kisaran umum pertumbuhan antara 45°C sampai 80°C. Bakteri termofilik mampu bertahan dan berkembang dalam kondisi suhu tinggi karena bakteri termofilik memiliki protein yang lebih stabil dan tahan panas dibandingkan dengan mesofil. Protein yang terdapat pada sel bakteri termofilik memiliki ikatan hidrofobik dan ikatan ionik yang sangat kuat (Novitasari, 2014). Bakteri termofilik memiliki potensial memproduksi enzim yang stabil terhadap panas atau termostabil dan memiliki sejumlah keuntungan dalam penggunaannya di bidang industri (Fifendi *et al.*, 2015).

Bakteri termofilik berpotensi besar dalam proses fermentasi dengan berbagai keuntungan jika

dibandingkan dengan mikroba mesofilik. Bakteri termofilik bekerja paling baik pada suhu tinggi, yang sejalan dengan prinsip kilang kimia, dan ini menjamin tingkat efisiensi dan produktivitas yang tinggi (Zeldes *et al.*, 2015). Pemanfaatan bakteri termofilik sangat berpengaruh terkait dengan peran penting enzim yang dihasilkannya sebagai biokatalis (Irdawati *et al.*, 2011).

Bakteri termofilik bisa ditemukan diberbagai tempat, seperti di sumber air panas, daerah aktivitas gunung berapi, maupun di dasar laut yang memiliki sumber mata air panas (Sianturi, 2008). Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber air panas dan memungkinkan untuk ditemukannya mikroorganisme (Pohan, 1998). Bakteri termofilik dapat diisolasi dari sumber air panas, salah satunya sumber air panas Sapan Sungai Aro yang terletak di Kabupaten Solok Selatan (Irdawati *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil pengukuran suhu dan pH yang dilakukan, sumber air panas Sapan Sungai Aro memiliki suhu 75°C dan pH 8 atau bersifat basa (Irdawati *et al.*, 2015). pH merupakan salah satu faktor penting yang mampu mempengaruhi proses fermentasi dan mempengaruhi kondisi pertumbuhan mikroba (Irdawati *et al.* 2022).

Pola pertumbuhan bakteri adalah meningkatnya jumlah kuantitas massa sel bakteri dengan cara terbentuknya sel-sel baru. Terjadinya proses pertumbuhan bakteri tergantung dari kemampuan sel dalam membentuk protoplasma baru dari nutrient yang tersedia di lingkungan. Pada bakteri, pertumbuhan secara aseksual dan disebut dengan pembelahan biner. Pembelahan biner berlangsung dengan interval yang teratur dengan penambahan atau kelipatan secara eksponensial (Riadi, 2016). Pola pertumbuhan bakteri termofilik melibatkan beberapa fase yang berbeda, termasuk fase lag, fase eksponensial (log), fase stasioner, dan fase kematian. Fase lag menandai adaptasi awal bakteri terhadap lingkungan, diikuti oleh fase eksponensial yang menandakan pertumbuhan signifikan karena kondisi lingkungan mendukung. Fase stasioner menunjukkan pertumbuhan bakteri mencapai titik stagnasi karena penipisan nutrisi dalam medium tumbuh. Fase kematian terjadi ketika laju kematian bakteri melebihi laju pertumbuhannya, mengakibatkan penurunan populasi bakteri (Riadi, 2016).

Metode yang umum digunakan untuk mengukur pola pertumbuhan bakteri yaitu dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Metode ini menggunakan alat spektrofotometer untuk mengukur tingkat kekeruhan (*Optical Density*) yang terbaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Metode ini lebih cepat dan dapat digunakan untuk kebutuhan waktu yang lebih cepat. Hasil analisis regresi dari nilai TPC (*Total Plate Count*) dengan nilai OD (*Optical Density*) menunjukkan pola linier, hal ini menunjukkan ada hubungan korelasi antara nilai OD dengan kerapatan bakteri (Seniati *et al.*, 2019).

Pengujian pola pertumbuhan pada isolat dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm) menjadi langkah kritis dalam mengungkapkan respons bakteri terhadap lingkungan kultur tertentu, termasuk suhu dan komposisi nutrient. Semakin tinggi tingkat kekeruhan maka dapat dinyatakan bahwa tingkat pertumbuhan dari bakteri yang diujikan semakin baik. Sebaliknya, jika tingkat kekeruhan rendah maka dapat dinyatakan bahwa tingkat pertumbuhan dari bakteri tersebut tidak baik (Suryadi *et al.*, 2019).

Maka dari latar belakang diatas, penelitian ini dilakukan untuk melihat bagaimana pola pertumbuhan dari isolat SSA-16 yang berasal dari sumber air panas Sapan Sungai Aro dengan dilakukan pengecekan menggunakan kekeruhan OD (*Optical Density*) 600 nm pada alat spektrofotometer, guna melihat pada fase pertumbuhan dan fase optimal dari isolat SSA-16.

Bahan dan Metode

Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2023 sampai April 2024, di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: erlenmeyer, bunsen, spatula, *hot plate*, timbangan digital, jarum ose, pipet tetes, oven, autoklav, *shaker incubator*, lemari pendingin, *petri dish*, mikropipet dan inkubator. Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu: bakteri termofilik SSA-16 (Irdawati *et al.*, 2018),

aquades, aquades steril, alkohol 70%, medium TMM (*Thermophilic Minimum Media*) cair ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01%, K_2HPO_4 0,1%, $(NH_4)_2SO_4$ 0,35%, NaCl 0,1%, Yeast ekstrak 0,05%, Pepton 0,05%, Glukosa 6%) kapas dan tissue (Irdawati, 2021).

Metode

Regenerasi Bakteri

Sebanyak 1 ose biakan bakteri termofilik Sapan Sungai Aro (SSA-16) diambil kemudian diinokulasikan ke dalam *Nutrient Agar* (NA) miring. Setelah itu diinkubasi pada suhu 50°C selama 3-5 hari.

a. Pembuatan Medium TMM (*Thermophilic Minimum Media*)

Pembuatan medium TMM dengan komposisi $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,01%, K_2HPO_4 0,1%, $(NH_4)_2SO_4$ 0,35%, NaCl 0,1%, Yeast ekstrak 0,05%, Pepton 0,05%, Glukosa 6%. Kemudian dilarutkan dengan penambahan aquades hingga volumenya mencapai 100 ml lalu medium dipanaskan menggunakan hot plate dengan suhu 50°C sampai homogen.

b. Aktivasi Bakteri pada Medium TMM dan Pengukuran *Optical Density* (OD)

Sebanyak 5 ose isolat SSA-16 dari agar miring dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi garam fisiologis (NaCl 0,85%) sebanyak 5 ml, lalu disetarakan dengan larutan *Mc Farland* 0,5. Kemudian sebanyak 5 ml suspensi bakteri dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi medium TMM cair sebanyak 20 ml dan dibuat dua ulangan, lalu diinkubasi selama 24 jam di *incubator shaker* pada suhu 50°C untuk diaktivasi.

Medium bakteri yang sudah diaktivasi diambil sebanyak 100 µl setiap 2 jam sekali selama 24 jam per masing-masing pengulangan dan diukur absorbansinya (*optical density*) menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm). Hasil dari pengukuran absorbansi inilah yang menjadi tolak ukur untuk melihat pola pertumbuhan dari isolat SSA-16.

Analisis Data

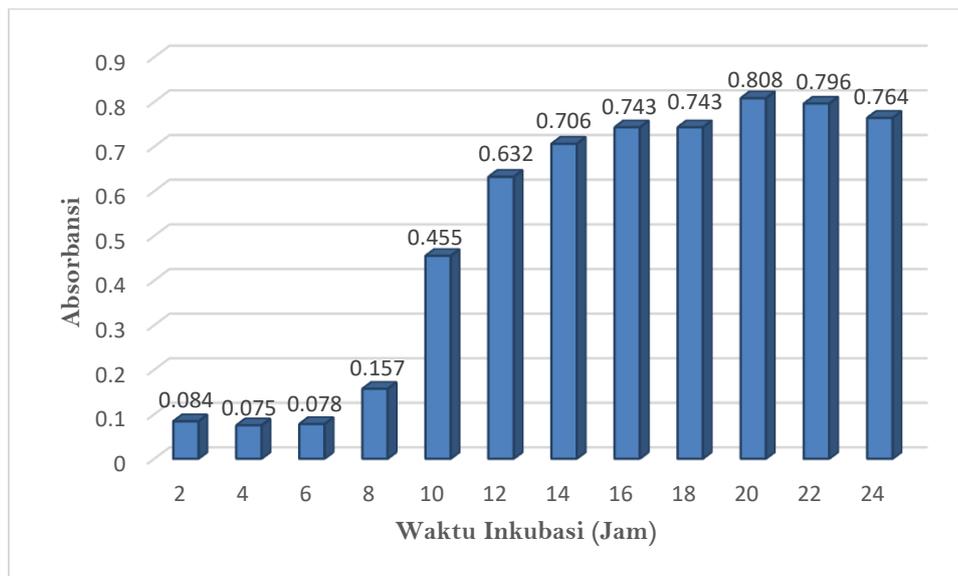
Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif dalam bentuk tabel dan gambar.

Hasil dan Pembahasan

Dari hasil pengukuran *optical density* (OD) dari isolat bakteri SSA-16 menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm) menunjukkan bahwa tingkat kerapatan sel bakteri yang dihasilkan cukup baik. Pengukuran value ABS (kekeruhan) isolat SSA-16 didapatkan hasil sebagai berikut:

Table 1. Pengukuran Value ABS *Optical Density* (OD) Isolat SSA-16

Jam	Value ABS (1)	Value ABS (2)	Rata-rata
2	0,085	0,083	0,084
4	0,077	0,073	0,075
6	0,076	0,080	0,078
8	0,153	0,160	0,157
10	0,470	0,440	0,455
12	0,720	0,544	0,632
14	0,873	0,575	0,706
16	0,935	0,550	0,743
18	0,936	0,551	0,743
20	0,945	0,583	0,808
22	1,060	0,555	0,796
24	1,036	0,555	0,764



Gambar 1. Kurva Tumbuh Isolat SSA-16

Pengukuran *Optical Density* (OD) menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm) memberikan gambaran kerapatan sel dalam suatu kultur mikroba, serta pertumbuhan populasi mikroba secara kuantitatif (Lizayana *et al.*, 2016). Pola pertumbuhan isolat bakteri termofilik SSA-16 dapat dilihat dari tingkat kekeruhan pada isolat tersebut menggunakan spektrofotometer, yakni semakin tinggi tingkat kekeruhan maka dapat dinyatakan pertumbuhan dari bakteri tersebut semakin baik. Dapat dilihat dari tabel 1 dan juga gambar 1 kurva tumbuh dari isolat SSA-16, pertumbuhan bakteri selama beberapa jam dalam 24 jam mengalami kenaikan yang signifikan. Terjadi penurunan pada beberapa jam terakhir, namun tidak menunjukkan data minus baik dari pengulangan 1 ataupun 2.

Dari data hasil pengukuran dapat dilihat bahwa pengukuran yang dilakukan selama 24 jam dan diukur selama 2 jam sekali dapat dijadikan parameter untuk melihat pertumbuhan bakteri yang diujikan karena bakteri mampu beradaptasi pada selang waktu yang diberikan. Melalui kurva pertumbuhan dapat merepresentasikan keseluruhan siklus pertumbuhan bakteri pada setiap fasenya yaitu: fase lag, eksponensial, stasioner dan fase kematian. Setiap fase dapat merepresentasikan naik atau turunnya hasil dari pola pertumbuhan bakteri.

Fase lag atau penyesuaian merupakan suatu masa saat sel-sel yang kekurangan metabolit dan enzim akibat keadaan yang tidak menguntungkan dalam pembiakan terdahulu, menyesuaikan diri dengan lingkungannya yang baru. Enzim-enzim dan zat-zat akan terbentuk dan terkumpul sampai mencapai konsentrasi yang memungkinkan dimulainya pertumbuhan (Tjahjadi, 2007). Pada fase ini bakteri belum mengalami pertumbuhan yang signifikan. Seperti yang ditunjukkan pada tabel pengukuran value ABS *Optical Density*, bakteri SSA-16 mengalami fase lag pada jam ke-2 sampai jam ke-6.

Fase eksponensial adalah fase pertumbuhan dari bakteri yang sangat cepat. Di fase ini pola pertumbuhan bakteri akan terus naik secara signifikan, yang dikarenakan oleh nutrisi pada medium pertumbuhan bakteri dapat bekerja dengan optimal (Medigan *et al.*, 2012). Pada pengukuran SSA-16 fase ini terjadi di jam ke-8 sampai jam ke-20, dimana hasil dari value ABS *optical density* mencapai rata-rata 0,808. Pada jam ke-16 sampai jam ke-20 pertumbuhan bakteri SSA-16 berada di fase stasioner (staknan).

Fase stasioner menunjukkan terjadinya penumpukan metabolit hasil aktivitas metabolisme sel dan kandungan nutrisi mulai habis (Sulistijowati, 2012). Pada 2 jam terakhir pertumbuhan bakteri berada pada fase mengalami penurunan value ABS. Penurunan pada value ABS ini dapat terjadi karena tingkat kekeruhan yang juga menurun. Seperti yang ditunjukkan pada tabel pengukuran value ABS *Optical Density*, bakteri SSA-16 mengalami fase lag pada jam ke-22 sampai jam ke-24.

Menurut Vestimarta & Irdawati (2024), ada dua istilah yang digunakan untuk menggambarkan pertumbuhan dalam fase eksponensial adalah waktu generasi dan laju pertumbuhan spesifik. Waktu generasi mengacu pada waktu yang diperlukan untuk penggandaan sel, sedangkan laju pertumbuhan spesifik adalah laju pertumbuhan maksimum yang dapat dicapai mengingat kondisi lingkungan yang ada (substrat yang tidak terbatas, suhu, dll.). Ketika substrat menjadi terbatas atau produk samping beracun menumpuk, sel akan meninggalkan fase eksponensial dan, dengan demikian, laju pertumbuhan spesifik akan

menurun (Maier, 2004)

Namun untuk fase kematian sendiri tidak dapat dideteksi hanya dengan uji pola pertumbuhan bakteri dengan OD saja. Dengan melibatkan pengujian karakteristik pola pertumbuhan isolat bakteri termofilik SSA-16, kita dapat mengidentifikasi waktu optimal penggunaan bakteri untuk uji lanjutan. Fase eksponensial menjadi poin kritis dalam pola pertumbuhan bakteri SSA-16, menandakan bahwa pada periode ini, bakteri mengalami kenaikan yang signifikan secara kontinyu (Utami & Irdawati, 2024). Oleh karena itu, menentukan fase eksponensial sebagai fase pertumbuhan yang paling optimal memiliki implikasi penting dalam memahami waktu yang tepat untuk mengambil sampel atau melibatkan bakteri SSA-16 dalam uji-ujian selanjutnya.

Kesimpulan

Dari pengujian yang telah dilakukan, dapat dilihat hasil uji *Optical Density* (OD) untuk melihat pola pertumbuhan isolat bakteri SSA-16 dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm) melewati beberapa fase. Fase pertama yaitu fase lag yang terjadi pada jam ke-2 sampai ke-6, yang kedua yaitu fase eksponensial terjadi pada jam ke-8 sampai ke-14 dengan mencapai rata-rata tertinggi 0,808 dan pada jam berikutnya pertumbuhan bakteri berada pada fase stasioner atau pertumbuhan bakteri dapat dinyatakan stagnan.

Daftar Pustaka

- 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.
- Irdawati, I. (2021). The Activity Xylanase Enzyme Thermophilic Bacteria SSA 2 in Starter Variation. *Serambi Biologi*, 6(1).
- Irdawati, I., & Fifendy, M. (2011). *Isolasi bakteri termofilik penghasil amilase dari sumber air panas Rimbo Panti, Pasaman*. Project Report. FMIPA UNP, Padang.
- 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*, 335 (1), 1-2. DOI:10.1088/1757-899X/335/1/012021
- Irdawati, I., Vaizi, N., Advinda, L., & Putri, D. H. (2022). Potential of thermophilic bacteria to produce bioethanol at variation of incubation pH. *Bioscience*, 6(2), 145-150.
- Lizayana, L., Mudatsir, M., & Iswadi, I. (2016). Densitas Bakteri pada Limbah Cair Pasar Tradisional. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Mahasiswa Biologi*, 1 (1), 95-106.
- Madigan, M. T., Martinko, J. M., Stahl, D. A., & Clark, D. P. (2012). A brief journey to the microbial world. *Brock biology of microorganisms, 13th edition. Benjamin Cummings, New York*, 25-30.
- Maier, R. M. (2004). Ian L. PEPPER a Charles P. GERBA. *Environmental microbiology*.
- Novitasari, Y. E. (2014). Screening Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase Dari sumber Air Panas Singgahan Tuban, Jawa Timur. *UNESA Journal of Chemistry*. 3(3).
- Pohan, R.S. (1998). Uji Aktivitas dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Protease dari Sumber Air Panas. *Skripsi*. Padang: Universitas Andalas.
- Riadi, M. (2016). *Pertumbuhan bakteri*. Diambil dari: <https://www.kajianpustaka.com>. Diakses,14.
- Seniati, S., Marbiah, M., & Irham, A. (2019). Pengukuran kepadatan bakteri *Vibrio harveyi* secara cepat dengan menggunakan spektrofotometer. *Agrokompleks*. 19(2): 12-19.
- Sianturi, D.C. (2008). Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Termofil Kasar dari Sumber Air Panas Penen Sibiru Biru Sumatera Utara. *Tesis*: USU Medan
- Sulistijowati, R. (2012). Potensi filtrat *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4796 sebagai biopreservatif pada rebusan daging ikan tongkol. *Indonesian Journal of Applied Sciences*, 2(2).
- Suryadi, GS, Susiani, S., Nugraha, M., Alifah, BAU, & Suryani, M. (2019). KEPADATAN OPTIK CETAK KUNING PADA KERTAS COATED DAN UNCOATED. *Jurnal Ilmiah Publipreneur*, 7 (2), 9-13.
- Uthami, F.N., & Irdawati, I. (2024). Karakteristik Pola Pertumbuhan Bakteri Termofilik Isolat MS-12 dari Sumber Air Panas Mudiak Sapan. *Jurnal Pendidikan dan Sains*. 4(1): 1-5.

- Vestimarta, A.W., & Irdawati, I. (2024). Profil Kurva Pertumbuhan Bakteri Termofilik Isolat SSA-8 dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro. *Jurnal Pendidikan Tambusai*, 8(1).
- Zeldes, B. M., Keller, M. W., Loder, A. J., Straub, C. T., Adams, M. W., & Kelly, R. M. (2015). Extremely Thermophilic Microorganisms as Metabolic Engineering Platforms for Production of Fuels and Industrial Chemicals. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1209.