

KARAKTERISTIK POLA PERTUMBUHAN BAKTERI TERMOFILIK ISOLAT MS-12 DARI SUMBER AIR PADAS MUDIAK SAPAN

Characteristics of the Growth Pattern of Thermophilic Bacteria Isolate MS-12 from the Padas Mudiak Sapan Hot Spring Water Source

Feranis Nadia Uthami & Irdawati

Universitas Negeri Padang

irdawati.amor@gmail.com

Article Info:

Submitted:	Revised:	Accepted:	Published:
Jan 7, 2024	Jan 14, 2024	Jan 17, 2024	Jan 20, 2024

Abstract

The growth pattern of thermophilic bacteria can be observed through turbidity testing, representing each growth phase: lag, exponential, stationary, and death phases. To evaluate and understand the growth pattern of thermophilic bacteria, particularly MS-12 isolate from the Mudiak Sapan (MS) hot springs, it can be analyzed through Optical Density (OD) testing using a UV-Vis spectrophotometer (600 nm). The OD test is commonly employed to determine the turbidity level in a solution by measuring the light passing through the solution, proportional to the number of cells or particles within it. The testing method used in this study is descriptive with two replications. The research was conducted at the Microbiology Laboratory, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Padang State University on December 9, 2023. Bacteria were incubated for 12 hours at a temperature of 50°C, and their growth was measured using a UV-Vis spectrophotometer with a wavelength of 600 nm. Turbidity measurements were taken every 2 hours during the 12-hour incubation period. The growth pattern of MS-12 bacterial isolate, as observed from the measurements, can be considered favorable. At the 2-hour measurement in the second hour, bacterial growth averaged at 0.1535 (lag phase). Measurements from the 3rd to the 8th hour reached an average of 0.8105 (exponential phase). The 9th and 10th hours exhibited a stationary phase, while the measurements in the last 2 hours indicated a death phase, signifying a decline in the bacterial growth pattern.

Keywords : Growth, Isolate, Thermophilic bacteria, Optical Density (OD), phase.

Abstrak: Pola pertumbuhan bakteri termofilik dapat diamati melalui uji kekeruhan, merepresentasikan setiap fase pertumbuhan: fase laten, eksponensial, stasioner, dan fase kematian. Untuk mengevaluasi dan memahami pola pertumbuhan bakteri termofilik, khususnya isolat MS-12 dari mata air panas Mudiak Sapan (MS), dapat dianalisis melalui pengujian Optical Density (OD) menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm). Pengujian OD umumnya digunakan untuk menentukan tingkat kekeruhan dalam suatu larutan dengan mengukur cahaya yang melewati larutan, sebanding dengan jumlah sel atau partikel di dalamnya. Metode pengujian yang digunakan dalam penelitian ini bersifat deskriptif dengan dua replikasi. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang pada tanggal 9 Desember 2023. Bakteri diinkubasi selama 12 jam pada suhu 50°C, dan pertumbuhannya diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm. Pengukuran kekeruhan diambil setiap 2 jam selama periode inkubasi 12 jam. Pola pertumbuhan isolat bakteri MS-12, sebagaimana diamati dari pengukuran, dapat dianggap menguntungkan. Pada pengukuran 2 jam pada jam kedua, pertumbuhan bakteri rata-rata mencapai 0,1535 (fase laten). Pengukuran dari jam ke-3 hingga ke-8 mencapai rata-rata 0,8105 (fase eksponensial). Jam ke-9 dan ke-10 menunjukkan fase stasioner, sementara pengukuran pada 2 jam terakhir menunjukkan fase kematian, menandakan penurunan pola pertumbuhan bakteri.

Kata Kunci: Pertumbuhan, Isolat, Bakteri Termofilik, Optical Density (OD), Fase.

PENDAHULUAN

Mikroorganisme termofilik merupakan jenis mikroba yang memiliki kemampuan untuk bertahan dan berkembang pada rentang suhu antara 45-80°C. Tidak jarang, mikroorganisme termofilik mampu beradaptasi dengan kondisi lingkungan yang ekstrim, bakteri termofilik juga memerlukan suhu tersebut untuk berproduksi (Mahmudah *et al.*, 2016). Bakteri termofilik memiliki potensi besar dalam proses fermentasi dengan berbagai keuntungan jika dibandingkan dengan mikroba mesofilik. Bakteri termofilik bekerja paling baik pada suhu tinggi dan ini menjamin tingkat efisiensi dan produktivitas yang tinggi, seperti yang telah terbukti dalam produksi hidrogen (Zeldes *et al.*, 2015).

Karakteristik utama dari mikroorganisme termofilik adalah adanya protein yang tahan terhadap panas dan tidak mengalami denaturasi, sehingga memungkinkan mereka untuk beradaptasi dalam kondisi lingkungan yang memiliki suhu ekstrem (Firliani *et al.*, 2015). Mikroorganisme termofilik bisa ditemukan pada habitat yang ekstrim, yaitu lubang hidrotermal laut dalam, sumber mata lahan vulkanik, *mud pot*, air panas (DeCastro *et al.*, 2016). Salah satu sumber air panas yang menjadi tempat isolasi bakteri termofilik adalah Mudiak Sapan.

Sumber Air Panas Mudiak Sapan merupakan habitat yang mengundang perhatian para peneliti karena potensi keberagaman mikroba yang dapat bertahan pada suhu tinggi.

Dalam konteks ini, isolat bakteri MS-12, sebuah bakteri termofilik yang diambil dari lingkungan tersebut, menjadi fokus penelitian sebagai representasi dari keanekaragaman mikroba potensial di sumber air panas. Isolat bakteri MS-12 merupakan salah satu bakteri yang dapat memproduksi bioethanol dan biolistrik (Fahra & Irdawati, 2023). Untuk mengetahui karakteristik pola pertumbuhan dari isolat bakteri MS-12 dapat dilihat dari uji pola pertumbuhan *Optical Density* (OD).



Gambar 1. Isolat Bakteri Termofilik MS-12

Parameter yang penting dalam karakterisasi pola pertumbuhan mikroorganisme termasuk bakteri termofilik dapat dilihat dengan menganalisis melalui *Optical Density* (OD) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm). Pengukuran OD memberikan gambaran tentang kepadatan sel dalam kultur mikroba, memungkinkan kita untuk memantau pertumbuhan populasi mikroba secara kuantitatif (Lizayana *et al.*, 2016). Uji OD didasarkan pada prinsip bahwa cahaya yang melewati larutan akan merasakan hambatan sebanding dengan jumlah sel atau partikel di dalamnya. Semakin padat larutan, semakin besar hambatan tersebut. Nilai OD diukur pada skala 0 hingga 2, di mana OD 0 biasanya menunjukkan larutan kosong atau bersih (tanpa hambatan cahaya), sementara OD 2 menunjukkan larutan yang sangat padat dengan sel atau partikel (Hartanti *et al.*, 2019).

Untuk melihat pertumbuhan bakteri dari uji OD sendiri umumnya dapat diilustrasikan melalui kurva pertumbuhan, yang mencakup empat fase utama: fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian. Kurva ini merepresentasikan seluruh siklus pertumbuhan bakteri, mulai dari periode adaptasi awal (fase lag), kemudian melalui periode pertumbuhan cepat (fase eksponensial), mencapai fase di mana pertumbuhan mencapai titik puncaknya (fase stasioner), dan akhirnya memasuki fase penurunan pertumbuhan (fase kematian) (Medigan *et al.*, 2012).

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).

METODE

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang dapat digunakan untuk menunjang penelitian ini adalah erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, bunsen, jarum ose, *hot plate*, timbangan digital, pipet tetes, *autoclave*, *shaker incubator*, *magnetic stirrer*, *spektrofotometer*, oven, label, *incubator*, kapas, tisu, isolate MS-12 (isolat koleksi Dr. Irdawati, M.Si) dari laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNP, bubuk medium NA, plastik kaca, akuades, *aluminium foil*, Alkohol 70%, medium TMM cair dengan komposisi ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl, *yeast extract*, *pepton*, *glukosa*), NaOH 3N, NaCl.

Metode Penelitian

a. Regenerasi Bakteri

Biakan bakteri termofilik Mudiak Sapan (MS 12) diambil sebanyak 1 ose, kemudian diinokulasikan ke dalam *nutrient agar* (NA) miring. Diinkubasi pada suhu 50°C selama 3-5 hari.

b. Pembuatan Medium TMM

Pembuatan medium TMM dengan komposisi ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, K_2HPO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NaCl, *yeast extract*, *pepton*, *glukosa*) dan ditambahkan dengan akuades hingga volumenya mencapai 45 ml. Kemudian medium dipanaskan ke dalam oven untuk memastikan medium berada pada suhu tinggi.

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

Isolat MS 12 masing-masing diambil sebanyak 5 ose dari agar miring dan 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.

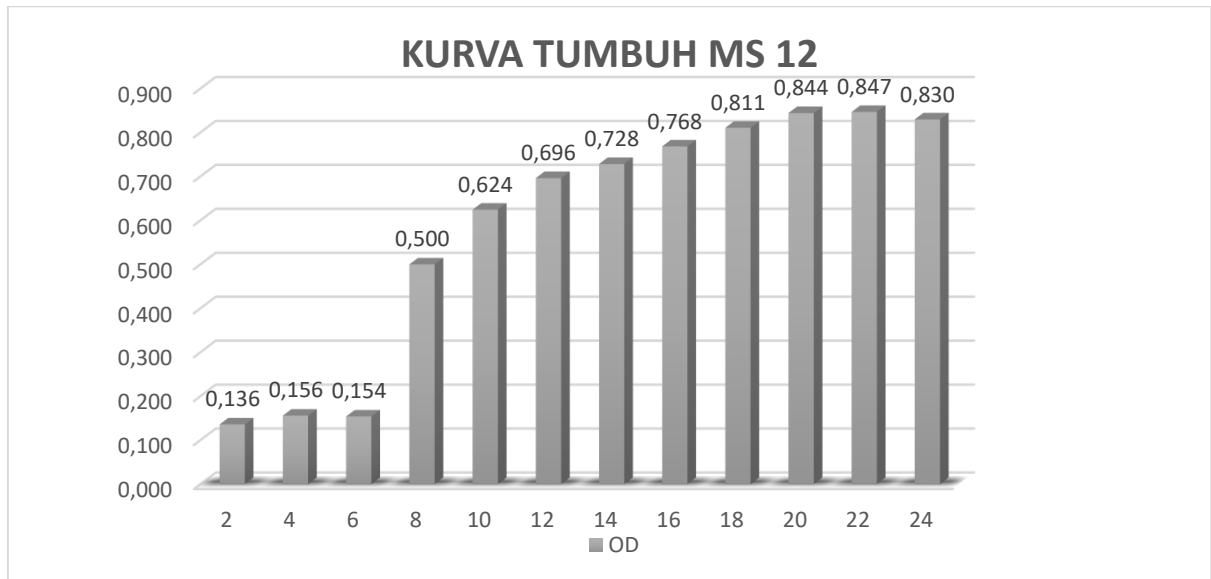
Medium bakteri yang sudah diaktivasi, kemudian akan diambil setiap 2 jam sekali sebanyak 100 µl dari masing-masing ulangan selama 24 jam, untuk diukur absorbansinya (*optical density*) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil dari pengukuran absorbansi inilah yang akan menjadi acuan untuk melihat kerapatan pertumbuhan bakteri dari MS-12.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil uji karakteristik pola pertumbuhan melalui *optical density* (OD) menggunakan spektrofotometer UV-Vis (600 nm) pada isolat MS-12 menunjukkan kerapatan yang baik. Pengukuran value ABS (kekeruhan) isolat MS-12 didapatkan hasil sebagai berikut:

Table 1. Pengukuran Value ABS *Optical Density* (OD) Isolat MS-12

Jam	Value ABS (1)	Value ABS (2)	Rata-rata
0	0,145	0,126	0,1355
1	0,159	0,152	0,1555
2	0,155	0,152	0,1535
3	0,633	0,366	0,4995
4	0,614	0,634	0,6240
5	0,688	0,704	0,6960
6	0,718	0,738	0,7280
7	0,750	0,786	0,7680
8	0,780	0,841	0,8105
9	0,783	0,905	0,8440
10	0,783	0,910	0,8465
11	0,753	0,906	0,8265
12	0,677	0,814	0,7455



Gambar 2. Kurva Tumbuh Isolat MS-12

Pola pertumbuhan isolat bakteri dilihat dari tingkat kekeruhan pada isolat tersebut, dimana semakin tinggi tingkat kekeruhan maka dapat dinyatakan pertumbuhan dari bakteri tersebut semakin baik. Dapat dilihat dari Tabel 1 dan juga kurva tumbuh dari isolat MS-12 dimana 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.

Pengukuran yang dilakukan selama 2 jam sekali selama 24 jam dapat menjadi parameter untuk melihat pertumbuhan dari bakteri yang diujikan karena bakteri dapat 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. Dimana tiap fase dapat merepresentasikan naik atau turunnya hasil dari pola pertumbuhan bakteri.

Fase lag biasa terjadi pada awal pertumbuhan bakteri, dimana bakteri masih harus beradaptasi pada medium ataupun temperatur suhu yang berbeda (Pin & Baranyi, 2008). Pada fase ini bakteri belum mengalami pertumbuhan yang signifikan. Seperti yang ditunjukkan pada tabel pengukuran value *ABS Optical Density*, bakteri MS-12 mengalami fase lag pada jam ke-1 sampai jam ke-3. Fase eksponensial adalah fase pertumbuhan dari bakteri yang sangat cepat. Difase 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 MS-12 fase ini terjadi di 2 jam ke-4 sampai jam ke-8, dimana hasil dari value *ABS optical density* mencapai rata-rata 0,8105. Pada 2 jam ke-9 sampai 11 pertumbuhan bakteri MS-12 berada difase stasioner (stagnan). Fase stasioner terjadi dikarenakan nutrisi dari medium yang semakin lama akan semakin menipis jadi sangat berpengaruh pada fase pola pertumbuhan pada bakteri, sehingga tidak terjadi perubahan yang signifikan dalam jumlah selnya (Navarro *et al.*, 2010). 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. 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 MS-12, kita dapat mengidentifikasi waktu optimal penggunaan bakteri untuk uji lanjutan. Fase eksponensial menjadi poin kritis dalam pola pertumbuhan bakteri MS-12, menandakan bahwa pada periode ini, bakteri mengalami kenaikan yang signifikan secara kontinyu. 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 MS-12 dalam uji-uji selanjutnya.

KESIMPULAN

Dari pengujian yang telah dilakukan, dapat dilihat hasil uji karakteristik pola pertumbuhan MS-12 dengan menggunakan *Optical Density* (OD) melewati beberapa fase. Fase pertama yaitu fase lag yang terjadi pada jam 1-3, yang kedua yaitu fase eksponensial terjadi pada jam ke 7-8 dengan mencapai rata-rata tertinggi 0,8105 dan pada jam berikutnya pertumbuhan bakteri berada pada fase stasioner atau pertumbuhan bakteri dapat dinyatakan stagnan.

DAFTAR PUSTAKA

- DeCastro, M. E., Rodríguez-Belmonte, E., & González-Siso, M. I. (2016). Metagenomics of Thermophiles with A Focus on Discovery of Novel *Thermozymes*. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1521.
- Fahra, F., & Irdawati, I. (2023). Uji Kompatibilitas Konsorsium Bikultur Bakteri Termofilik Asal Mudiak Sapan Hot. *Jurnal Serambi Biologi*, 8 (1), 22-25.
- Firliani, W., Agustien, A., & Febria, F. A. (2015). Karakterisasi Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Protease Netral. *Jurnal Biologi UNAND*, 4(1).

- Hartanti, D., Djalil, AD, Hamad, A., & Yulianingsih, N. (2019). Efek infus *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. daun sebagai pengawet alami daging ayam. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 19-27.
- 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.
- Mahmudah, R., Baharuddin, M., & Sappewali, S. (2016). Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas Lejja, Kabupaten Soppeng. *Al-Kimia*, 4(1), 31-42.
- Agustina, R., Ade, MU., & Dewi, MK. 2018. Uji Daya Hambat Anti Bakteri Infusa Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) & Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi. *Lampung Jurnal Analisis Farmasi*. 3 (1): 79-88.
- Navarro Llorens, J. M., Tormo, A., & Martínez-García, E. (2010). Stationary phase in gram-negative bacteria. *FEMS microbiology reviews*, 34(4), 476-495.
- Pin, C., & Baranyi, J. (2008). Jeda waktu sel tunggal dan populasi sebagai fungsi usia sel. *Mikrobiologi terapan dan lingkungan*, 74 (8), 2534-2536.
- 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.
- 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.