

The Thermophilic Bacterial Growth Curve

I Irdawati^{1*}, Ilsa Septia Putri¹, Syamsuardi², Anthoni Agustien², Yetria Rilda²

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

² Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Andalas, Padang

*Corresponding author: irdawati.amor40@gmail.com

Abstract. Thermophilic bacteria are bacteria that can produce thermostable enzymes and used in various industries. Thermostable enzymes that can be produced by thermophilic microorganisms one of them is xylanase enzyme. Xylanase produced by microbes has optimum temperature characteristics and more diverse optimum pH on various substrates, which will affect the activity of the resulting xylanase enzyme. The influence of temperature greatly determines the activity of the enzyme at the time of catalyzing a reaction. At optimum pH conditions, the enzyme has an active side conformation that is substrate-like so that it can form a complex of appropriate enzymes and produce the product to its full potential. One of the thermophilic bacterial habitats of hot springs in West Sumatera is the Aro Sapan River hot spring located in Koto Parik Gadang Subdistrict in Ateah, South Solok District. The Saw Aro River hot spring has a temperature of 75 ° C and is pH 8 or alkaline. The aim to this research was to know the profile of the growth of thermophilic bacteria. This research is a descriptive method. The data obtained were analyzed descriptively. The conclusion is the best activity of xylanase thermophilic bacteria was at the sixth time incubation.

Keywords: Thermophilic Bacteria, Xylanase Enzyme, Aro Sapan River Hot Spring



This is an open access article distributed under the Creative Commons 4.0 Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. ©2018 by author.

1. PENDAHULUAN

Mikroorganisme merupakan salah satu organisme hidup yang dapat menghasilkan enzim selain dari tumbuhan, hewan maupun manusia (Pakpohan, 2009). Secara umum, mikroorganisme dibagi dalam 4 kelompok berdasarkan suhu lingkungan di mana dia hidup, yaitu psikrofil, mesofil, termofil dan hipertermofil. Pada umumnya mikroorganisme yang dapat hidup dan bereproduksi pada kondisi ekstrem seperti suhu, pH, tekanan, konsentrasi garam, radiasi, dan toksik dinamakan dengan organisme ekstremofil. Salah satu contoh organisme ekstremofil adalah mikroorganisme termofilik (Pakpohan, 2009).

Mikroorganisme termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu hidup pada suhu tinggi dengan suhu optimum pertumbuhan mencapai lebih dari 60°C (Ratri et al., 2009). Selain itu bakteri termofilik juga mampu beraktivitas dan bereproduksi pada lingkungan tersebut (Vanadianingrum, 2008). Keberadaan bakteri termofilik pada sumber air panas disebabkan oleh kondisi lingkungan yang didukung oleh faktor biotik dan abiotik. Kondisi biotik di lingkungan sumber air panas terdapat rumput-rumputan, lumut dan sumber organik lainnya (Firliani et al., 2015). Dirnawan et al. (2000) melaporkan bahwa dedaunan yang gugur, ranting dahan, biji rerumputan, serbuk sari, dan bangkai serangga yang terdapat disekitar sumber air panas merupakan bahan organik yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme yang hidup didalam sumber air panas.

Keberadaan komponen abiotik sangat mendukung pertumbuhan mikroorganisme termofilik. Salah satu faktor abiotik adalah mineral. Menurut Amend & Shock (2001) kawasan yang memiliki komposisi gas dan mineral, reaksi oksidasi dan reduksi serta nutrisi yang bervariasi dapat menyebabkan hadirnya keanekaragaman genetik dan metabolisme setiap mikroorganisme yang hidup didalamnya. Adanya mineral pada sumber air panas memungkinkan mikroorganisme termofilik berkembang dan bertahan hidup.

Bakteri termofilik merupakan bakteri yang dapat menghasilkan enzim thermostabil yaitu enzim yang tahan dan stabil terhadap panas serta bisa digunakan dalam berbagai industri. Menurut Rosminik (2001) enzim merupakan suatu protein yang berperan sebagai katalisator pada reaksi biologis. Enzim banyak digunakan dalam berbagai industri, baik industri pangan, industri pulp dan lain-lain.

Enzim thermostabil yang dapat dihasilkan oleh bakteri termofilik salah satunya adalah enzim xilanase (Susilowati et al., 2012). Xilanase merupakan kelompok enzim yang memiliki kemampuan menghidrolisis hemiselulosa, dalam hal ini ialah xilan (Rhicana, 2002). Xilan merupakan komponen utama penyusun hemiselulosa yang jumlahnya sangat melimpah di alam. Xilanase biasa digunakan dalam bidang industri seperti industri kertas, industri makanan dan industri minuman. Dalam industri minuman enzim xilanase digunakan sebagai penjernih jus, pada industri kertas xilanase berperan sebagai pengganti klorin dalam proses penjernihan pulp atau bubur kertas dalam upaya penyelamatan lingkungan. Klorin bersifat mutagenik yang dapat merangsang sel-sel kanker, oleh karena itu dibutuhkan enzim yang ramah lingkungan. Penggunaan xilanase pada proses pra-pemutihan pulp dapat menurunkan jumlah senyawa klorin yang digunakan.

Kebutuhan dunia industri terhadap xilanase pada pasar global setiap dekade memperlihatkan peningkatan yang signifikan. Pada saat ini pasar global dunia untuk industri enzim, khususnya xilanase menyumbangkan 25 % - 28% dari total penjualan enzim dunia. Peningkatan penjualan pada tahun 2001 sebesar 510 juta pountarling menjadi 760 juta pounstarling pada tahun 2010 (Shrinivas et al., 2010 dalam Canakci et al., 2012). Menurut

Rhicana (2002) xilanase dapat diproduksi dari beberapa jenis bakteri dan jamur. Berdasarkan hasil penelitian Lee et al. (1985) bahwa dari 20 strain *Clostridium* sp. ternyata *C. Acetobutylicum* NRRL B527 dan ATCC 824 menghasilkan xilanase terbanyak. Xilanase juga dapat diisolasi dari *Aspergillus niger* dan peningkatan produksi xilanase membutuhkan suatu induser yaitu oat spelts xylan.

Xilanase yang dihasilkan oleh mikroba memiliki karakteristik suhu optimum dan pH optimum yang lebih beragam pada berbagai substrat, dimana hal tersebut akan mempengaruhi aktivitas enzim xilanase yang dihasilkan (Purwanti, 2015). Enzim mampu bekerja secara optimal dan menghasilkan aktivitas optimum pada kondisi pH optimal. Pada kondisi pH optimum, enzim memiliki konformasi sisi aktif yang sesuai dengan substrat sehingga dapat membentuk kompleks enzim-enzim yang tepat dan menghasilkan produk secara maksimal. Selain pH, faktor lain yang mempengaruhi aktivitas katalitik enzim adalah suhu. Aktivitas katalitik enzim akan mencapai nilai maksimal ketika dikondisikan pada suhu optimum enzim dimana pada suhu tersebut enzim mampu bekerja secara maksimal dan memiliki konformasi sisi aktif yang stabil.

Pengaruh suhu sangat menentukan aktivitas enzim pada waktu mengkatalisa suatu reaksi. Seluruh enzim memerlukan jumlah panas tertentu untuk dapat aktif. Sejalan dengan meningkatnya suhu, makin meningkat pula aktivitas enzim. Secara umum, setiap peningkatan sebesar 10°C diatas suhu minimum, aktivitas enzim akan meningkat sebanyak dua kali lipat. Aktivitas enzim meningkat pada kecepatan ini hingga mencapai kondisi optimum (Pakpohan, 2009). Susilowati et al. (2012) melaporkan bahwa pada kondisi suhu 50 ° C, pH 9 dan kecepatan aerasi 150 rpm, isolat IIA-3 memproduksi enzim xilanase dengan aktivitas tertinggi. Berdasarkan hasil penelitian Sukmana et al. (2014) xilanase paling stabil pada penyimpanan suhu 60 ° C. Sedangkan waktu penyimpanan semakin lama aktivitas xilanase semakin menurun. Pada suhu 30,50 dan 60° C xilanase stabil sampai 25 jam. Pada suhu 40° C stabil sampai penyimpanan 20 jam. Pada suhu 70° C stabil sampai penyimpanan 15 jam.

Bakteri termofilik memiliki habitat yang tersebar luas di muka bumi (Wahyuna, 2012). Salah satu habitat bakteri termofilik sumber air panas yang ada di Sumatera Barat adalah sumber air panas Sapan Sungai Aro yang terletak di Kecamatan Koto Parik Gadang di Ateh, Kabupaten Solok Selatan. Sumber air panas Sapan Sungai Aro memiliki suhu 75 ° C dan pH 8 atau bersifat basa. Disekitar sumber air panas ini terdapat vegetasi berupa rumput-rumputan. Kandungan mineral sumber air panas Sapan Sungai Aro mengindikasikan adanya unsur nitrat sebanyak 0.025 mg/l, kalsium sebanyak 1.107 mg/l, magnesium 0.262 mg/l, sulfat sebesar 163.5 mg/l, dan besi < 0.05 mg/l.

Hasil penelitian Irdawati et al. (2015) isolat bakteri dari sumber air panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan diperoleh 16 isolat bakteri termofilik yang berada

berdasarkan karakteristik morfologinya (bentuk, tepian, elevasi, dan warna koloni). Dari 16 isolat yang diperoleh, 7 isolat berasal dari sampel air dan 9 isolat berasal dari sampel sedimen tanah (sludge). Keberadaan bakteri termofilik pada sumber air panas ini disebabkan karena kondisi lingkungan sumber air panas yang mendukung kehidupan bakteri tersebut seperti faktor biotik dan abiotik.

2. BAHAN DAN METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif, dilaksanakan bulan Juni 2017 – Juni 2018. Tempat penelitian yaitu di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA UNP. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah autoklaf, shaker inkubator, spektrofotometer, inkubator bakteri, oven, kompor listrik, hot plate, magnetic stirrer, lemari pendingin, sentrifus, timbangan digital, cawan petri, gelas ukur, beaker glass, erlenmeyer 100 ml, erlenmeyer 250 ml, gelas kimia, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, pipet volumetrik, pipet tetes, jarum ose, bunsen, alat tulis dan kamera.

Adapun bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat bakteri SSA 2, medium NA (Nutrient Agar) , Gellan gum, medium beechwood xylan, buffer fosfat, xilosa, pereaksi DNS, aquadest steril, alkohol, dan spiritus.

2.1 Prosedur Penelitian

a. Persiapan Penelitian.

1) Sterilisasi Alat dan Bahan.

Alat dan bahan disterilisasi menggunakan autoklaf 121° C pada tekanan 15 psi selama 15 menit.

2) Pembuatan Medium.

Medium yang digunakan adalah NA untuk regenerasi isolat bakteri yang sudah ada. Pembuatan medium ini dengan cara 20 g medium NA dilarutkan dalam 1 L aquades. Lalu dipanaskan dengan kompor listrik sampai mendidih dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

Pertumbuhan bakteri penghasil xilanase digunakan medium cair bechwood xylan dengan komposisi polipepton 0,5 %, ekstrak khamir 0,1 %, K₂HPO₄ 0,1 %, MgSO₄.7H₂O 0,02 %, dan bechwood xylan 0,1 % dilarutkan dalam 1 L aquades dengan pH 8. Medium cair dipanaskan hingga homogen kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

3) Persiapan Inokulum.

Inokulum dipersiapkan dengan menginokulasikan 3-5 ose dari isolat bakteri termofilik dalam medium cair beechwood xylan. Inokulasi menggunakan wadah Erlenmeyer 100 ml dengan

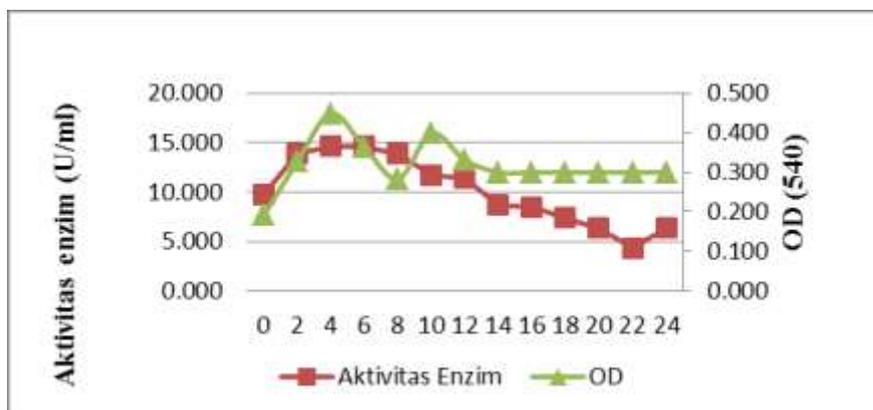
volume medium cair sebanyak 25 ml. Setelah itu inokulum diinkubasi pada suhu 60° C selama 24 jam menggunakan shaker dengan kecepatan 150 rpm.

b. Pelaksanaan Penelitian.

Profil kurva pertumbuhan bakteri dan kurva aktivitas xilanase dilakukan pada isolat bakteri termofilik penghasil xilanase. Pertumbuhan bakteri dan aktivitas enzim diukur dengan cara mengambil 2 ml suspensi kemudian dimasukkan ke dalam 25 ml medium beechwood xylan pada Erlenmeyer 100 ml. Setelah itu di shaker pada suhu 60°C dengan kecepatan 150 rpm. Inokulum sebanyak 10 ml dimasukkan lagi ke 2 erlenmeyer yang berisi 100 ml beechwood xylan. Sampling dilakukan dengan cara diambil sebanyak 2 ml kultur dari medium produksi enzim setiap 2 jam selama 24 jam. Jumlah bakteri ditentukan dengan mengukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 540 nm. Sedangkan untuk aktivitas enzim setiap dua jam selama 24 jam dilakukan pencuplikan dan selanjutnya ditentukan aktivitas xilanase. Dibuat grafik hubungan jumlah bakteri dengan aktivitas xilanase. Dari grafik ini diperoleh data waktu untuk pengisolasian enzim.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan bakteri isolat SSA 2 dinyatakan dalam aktivitas enzim. Dari penelitian yang telah dilakukan, didapatkan profil kurva pertumbuhan bakteri dengan pertumbuhan paling tinggi pada jam ke-4. Sedangkan aktivitas enzim paling tinggi berada pada jam ke-6 setelah inkubasi yaitu 14,641 U/ml.



Gambar. Kurva pertumbuhan dan aktivitas enzim bakteri SSA 2

Pada jam ke-4 nilai aktivitas enzim adalah 14.607 U/ml. Aktivitas enzim stabil setelah jam ke-4 sampai jam ke-20. Aktivitas enzim terendah pada jam ke-22 dengan nilai aktivitas 4.293 U/ml.

Pertumbuhan bakteri terdapat 4 tahap yaitu fase lag (adaptasi), fase eksponensial (logaritmik), fase stasioner, dan fase kematian. Kurva pertumbuhan bakteri (Gambar 1) terlihat bahwa bakteri SSA 2 memiliki lama fase adaptasi dan fase pertumbuhan selama 4

jam. Waktu adaptasi dari bakteri ini dikatakan singkat yaitu sampai jam ke-2. Hal ini terjadi karena medium yang digunakan untuk fermentasi merupakan medium yang optimum untuk mikroba termofilik ini. Fase adaptasi terjadi relatif singkat karena bakteri tersebut tumbuh pada media yang sama dengan media pada penyegaran maka penyesuaian diri dengan lingkungan yang baru berlangsung cepat.

Setelah melewati fase lag (adaptasi) sel bakteri memasuki fase eksponensial (fase log). Fase log bakteri SSA 2 berlangsung pada jam ke-2 sampai jam ke-4. Fase log ini dicirikan dengan adanya pertumbuhan signifikan pada pertumbuhan sel-selnya. Fase logaritmik menggambarkan sel membelah diri dengan laju konstan, masa menjadi dua kali lipat dengan laju sama, aktifitas metabolisme konstan, serta keadaan pertumbuhan seimbang. Fase logaritmik bakteri mengalami pertumbuhan secara cepat. Selain itu, kebutuhan akan energi bagi bakteri pada fase logaritmik lebih tinggi dibandingkan pada fase lag (adatasi), stationer dan kematian. Fase logaritmik sel banyak menghasilkan metabolit yang dibutuhkan dalam memenuhi kebutuhannya dalam rangka pertumbuhan.

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan hasil bahwa aktivitas enzim tertinggi berada pada jam ke-6 dengan nilai aktivitas enzim 14,641 U/ml. aktivitas enzim menurun setelah jam ke-6. Setelah jam ke-6 sampai jam ke-20 aktivitas enzim cenderung stabil dan ini menunjukkan bahwa fase eksponensial sedang berjalan. Aktivitas enzim terendah terjadi pada jam ke-22, pada saat ini sudah memasuki fase kematian karena kondisi nutrisi yang semakin berkurang. Fase kematian sel yang mati menjadi lebih cepat daripada terbentuknya sel-sel baru, laju percepatan kematian tinggi. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan waktu panen enzim pada jam ke-6. Tingginya aktivitas enzim yang terjadi pada waktu panen menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim yang stabil.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa aktivitas xilanase bakteri termofilik yang terbaik adalah pada inkubasi jam ke-6.

Daftar Pustaka

- Amend JP, & Shock EL. 2001. Energetics of Overall Metabolic Reaction of Thermophilic and Hyperthermophilic Archaea and Bacteria. *FEMS Microbiology Review*, 25: 175-243.
- Dirnawan H, Suwanto A & Purwaria T. 2000. Eksplorasi Bakteri Termofil Penghasil Enzim Hidrolitik Ekstraseluler dari Sumber Air Panas Gunung Pancar. *Catatan Penelitian. Jurnal Hayati*, 7(2): 52-55.

- Irdawati, Mades F, & Nofri Y. 2015. Penapisan Bakteri Termofilik Penghasil Enzim Amilase dari Sumber Air Panas Sapan Sungai Aro Kabupaten Solok Selatan. *Jurnal Eksakta*, 1: 73-81.
- Pakpohan R. 2009. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Protease Termofilik dari Sumber Air Panas Sipohalon Tapanuli Utara Sumatera Utara. Tesis. Medan: Universitas Sumatera Utara.
- Ratri IR, Sarjono PR, & Aminin ALN. 2009. Studi Filogeni dan Uji Potensi Bioremediasi serta Enzim Termostabil Ekstraseluler Isolat *Geobacillus* sp. dari Sumber Air Panas Gedong Songo. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 12(2): 31-39.
- Richana N. 2002. Produksi dan Prospek Enzim Xilanase dalam Pengembangan Bioindustri di Indonesia. *Buletin Agrobio*, 5(1): 29-36.
- Rosmimik. 2001. Studi Penambahan Ion Kalsium terhadap Aktivitas dan Stabilitas α -Amilase *Bacillus stearothermophilus* TII. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*, 6(2): 12-14.
- Sukmana ME, Sutrisno, & Anna R. 2014. Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan terhadap Kestabilan Enzim Xilanase dari *Trichoderma viride*. *Kimia Student Journal*, 2(1): 340-344.
- Susilowati PE, Raharjo S, Kurniawati D, Rahim R, Sumarlin & Ardiansyah. 2012. Produksi Xilanase dari Isolat Sumber Air Panas Sonai, Sulawesi Tenggara, Menggunakan Limbah Pertanian. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(3): 199-204.
- Vanadianingrum ES. 2008. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Xilanase dari Cairan Rumen Kambing & Domba dan Sumber Air Panas Cipanas. Skripsi. Bogor: Fakultas Peternakan Institut Pertanian Bogor.
- Wahyuna D. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termo Proteolitik Sumber Air Panas Sungai Madang, Sungai Penuh. Jambi. Skripsi. Padang: Universitas Andalas.