

**EKSPLORASI BAKTERI TERMOFILIK DARI SUMBER
AIR PANAS DIKAWASAN CAGAR ALAM TINGGI
RAJA KECAMATAN SILAU KAHEN
KABUPATEN SIMALUNGUN
SUMATERA UTARA**

SKRIPSI

OLEH :

**PUTRI NADILA
158700019**



**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
2019**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

.....
©Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
.....

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruhnya karya ini tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 10/21/19

Access from repository.uma.ac.id

**EKSPLORASI BAKTERI TERMOFILIK DARI SUMBER
AIR PANAS DIKAWASAN CAGAR ALAM TINGGI
RAJA KECAMATAN SILAU KAHEN
KABUPATEN SIMALUNGUN
SUMATERA UTARA**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh
Gelar Sarjana di Fakultas Biologi
Universitas Medan Area



Oleh :

**PUTRI NADILA
158700019**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS BIOLOGI
UNIVERSITAS MEDAN AREA
2019**

UNIVERSITAS MEDAN AREA

.....
© Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang
.....

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya ini tanpa mencantumkan sumber
2. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian dan penulisan karya ilmiah
3. Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruhnya karya ini tanpa izin Universitas Medan Area

Document Accepted 10/21/19

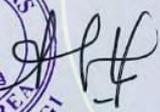
Access from repository.uma.ac.id

Judul Penelitian : Eksplorasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas
Dikawasan Cagar Alam Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen
Kabupaten Simalungun Sumatera Utara
Nama : Putri Nadila
Npm : 15.870.0019
Fakultas : Biologi

Disetujui Oleh
Komisi Pembimbing


Abdul Karim, S.Si M.Si
Pembimbing I


Ida Fauziah, S.Si M.Si
Pembimbing II



Dr. Multi Sudibyo, M.Si
Dekan


Dra. Sartini, M.Sc
Ka. Prodi/WD I

Tanggal Lulus : 16 September 2019

HALAMAN PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun, sebagai syarat memperoleh gelar sarjana merupakan hasil karya tulis saya sendiri. Adapun bagian-bagian tertentu dalam penulisan skripsi ini saya kutip dari hasil karya orang lain telah ditulis sumbernya secara jelas sesuai dengan norma, kaidah dan etika penulisan ilmiah.

Saya bersedia menerima sanksi pencabutan gelar akademik yang saya peroleh dan sanksi-sanksi lainnya dengan peraturan yang berlaku, apabila di kemudian hari ditemukan adanya plagiat dalam skripsi ini.

Medan, 12 Oktober 2019



Putri Nadila
15.870.0019

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Medan Area, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Putri Nadila
NPM : 158700019
Program Studi : Biologi
Fakultas : Biologi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Medan Area **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-Exclusive Royalti-Free Right*)** atas karya ilmiah yang berjudul : Eksplorasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Dikawasan Cagar Alam Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen Kabupaten Simalungun Sumatera Utara.

Beserta perangkat yang ada (jika diperlukan) dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Medan Area berhak menyimpan, mengalihkan media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan memublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Universitas Medan Area
Pada Tanggal : 12 Oktober 2019
Yang menyatakan


(Putri Nadila)

ABSTRACT

Thermophilic bacterial exploration is paramount to conduct in order to indentify the characteristic and species of bacteria. The research was carried out descriptively by taking hot water samples from upper and lower craters in Tinggi Raja sanctuary area in Kahen sub-district Simalungun, North Sumatera. Macroscopic and microscopic observation as well as biochemical tests were conducted to determine the characteristics of thermophilic bacteria from these samples. The results of the study showed that the bacteria from the two isolates are gram positive, motil and able to produce catalase enzyme.

Keywords : Hot water, pH, Temperature, Thermophilic Bacteria



ABSTRAK

Eksplorasi bakteri termofilik sangat penting untuk mengetahui jenis dan sifatnya, penelitian dilakukan dengan metode deskriptif ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri termofilik pada sumber air panas. Sampel air panas 2 kawah yaitu atas dan bawah dikawasan cagar alam Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen Kabupaten Simalungun Sumatera Utara. Pengamatan dilakukan secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia untuk mengetahui karakteristik bakteri termofilik pada sampel tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri dari kedua kawah ditemukan dua isolat yang memiliki bentuk koloni bulat bersifat gram positif, motil dan menghasilkan enzim katalase.

Kata kunci : Air panas, pH, Suhu, Bakteri Termofilik



KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa atas segala karuniaNya sehingga skripsi ini berhasil dilakukan. Dengan judul “Ekplorasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Dikawasan Cagar Alam Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen Kabupaten Simalungun Sumatera Utara”.

Terimakasih penulis ucapkan kepada Bapak Abdul Karim, S.Si, M.Si selaku Pembimbing I dan Ibu Ida Fauziah, S.Si, M.Si selaku Pembimbing II, serta Ibu Dewi Nur Anggraeni, S.Si, M.Sc selaku komisi Sekretaris yang telah memberikan banyak saran kepada penulis. Disamping itu penghargaan penulis sampaikan kepada Bapak Dr. Mufti Sudiby, M.Si selaku Dekan Fakultas Biologi dan bapak serta ibu Dosen Fakultas Biologi yang telah membantu penulis menyelesaikan hasil penelitian ini. Ungkapan terimakasih juga disampaikan kepada ayah, ibu, serta seluruh keluarga atas doa dan perhatiannya.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan, oleh karena itu segala kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat baik untuk kalangan pendidikan maupun masyarakat. Akhir kata penulis ucapkan terimakasih.

Penulis



(Putri Nadila)

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRACT	v
ABSTRAK	vi
RIWAYAT HIDUP	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTARTABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan	3
1.4. Manfaat	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Macam-macam Bakteri Ditempat Ekstrim	4
2.1.1. Termoasidofilik	4
2.2. Deskripsi Bakteri Termofilik	4
2.2.1. Morfologi Bakteri Termofilik	5
2.3. Habitat	6
2.4. Identifikasi Bakteri Termofilik	7
2.5. Klasifikasi Bakteri Termofilik	7
2.6. Adaptasi Bakteri Termofilik	7
2.7. Binomial <i>Thermus aquaticus</i>	10
III. METODOLOGI PENELITIAN	11
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	11
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	11
3.3. Metode Penelitian	11
3.4. Analisis Data	16
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	17
4.1. Karakteristik Lingkungan Sumber Air Panas	17
4.2. Isolasi dan Identifikasi Bakteri dari Air Panas	18
V. SIMPULAN DAN SARAN	26
5.1. Simpulan	26
5.2. Saran	26
DAFTAR PUSTAKA	27
LAMPIRAN	30

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Hasil Pengukuran Parameter Lingkungan Air Panas	17
2. Karakteristik Morfologi Koloni	18
3. Hasil Uji Pewarnaan Gram	21
4. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri.....	22



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Sumber Air Panas.....	2
2. Koloni Tunggal Isolat Bakteri.....	19
3. Hasil Pewarnaan Gram.....	21



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sumber air panas merupakan objek wisata yang sangat digemari oleh masyarakat hingga kini, selain untuk menghilangkan stres tempat ini juga dikunjungi dengan beberapa alasan lain seperti untuk mengobati insomnia, memperlancar sirkulasi darah dan mengobati jerawat. Kandungan kimia berupa mineral sulfat (SO_4), klorida (Cl), Magnesium (Mg), dan Kalsium (Ca) memiliki kemampuan untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan, terutama yang berhubungan dengan infeksi kulit (Arikunto, 2006).

Sumber air panas Tinggi raja merupakan objek wisata cagar alam dan pemandian air panas/belerang. Sampai saat ini pengelolannya masih ditangani oleh Balai Konservasi Sumber Daya Alam (BKSDA) Dinas Kehutanan Provinsi Sumatera Utara. Bakteri termofilik ini merupakan bakteri yang memiliki kemampuan bertahan hidup padasuhu yang tinggi yaitu 45-70°C. Habitat alami bakteri termofilik adalah sumber air panas, kawah gunung berapi dan daerah vulkanik lainnya (Wahyuna, 2012).

Sumber air panas Tinggi Raja berada pada satu bukit kapur dengan luas sekitar setengah hektar. Luapan sumber air panas ini berada pada retakan yang menghubungkan tiga bukit dikawasan tersebut, masing-masing diarah selatan, timur dan barat. Lebar retakan yang menjadi tempat luapan air panas tersebut adalah 10-60 cm, dengan tinggi cipratan air rata-rata 30cm (Khairul, 2007).

Menurut Brock (1986), terdapat tiga faktor yang mampu menyebabkan bakteri termofilik bertahan dan berkembang dengan kondisi suhu yang cukup tinggi, yaitu (1) kandungan enzim dan protein yang lebih stabil serta tahan akan

panas dibandingkan dengan bakteri mesofilik (2) molekul pensistesis protein yang cukup stabil terhadap panas (3) membran lipid sel termofilik mengandung banyak asam lemak jenuh yang membentuk ikatan hidrofobik yang cukup kuat.

Pada beberapa tahun belakangan ini, enzim termostabil dari ekstrim termofil menjadi sangat penting karena sifat termostabilitas intrinsik dan resistensinya terhadap perubahan faktor-faktor fisik dan kimia (Marthariana, 2010). Keunggulan bakteri termofilik adalah yang mampu menghasilkan enzim yang tahan akan suhu ekstrim. Enzim termostabil mampu bertahan dan aktif pada temperatur yang cukup tinggi. Karakter ini sangat digemari oleh industri-industri yang berbasis enzim. Penggunaan enzim yang mampu bertahan pada suhu ekstrim dapat menekan biaya operasi dan meningkatkan kecepatan reaksi, seperti penggunaan enzim dari bakteri *Thermus aquaticus* adalah spesies bakteri yang mampu mentoleransi suhu ekstrim pada proses PCR (Polymerase chain reaction).



Gambar 1. Sumber Air Panas Tinggi Raja

Penelitian tentang bakteri termofilik dilakukan oleh (Firliani dkk, 2015), yang mengkaji enzim protease netral yang ada didalam bakteri termofilik akan tetapi eksplorasi mengenai jenis bakteri termofilik dikawasan sumber air panas

Tinggi Raja belum pernah dilakukan sehingga belum tersedia data jenis bakteri termofilik dikawasan tersebut, untuk itu perlu dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi dan mengenal karakteristik bakteri termofilik di sumber air panas Tinggi Raja.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah mengeksplorasi bakteri termofilik dan melihat jenis apa saja yang terdapat pada air panas Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen Kabupaten Simalungun Sumatera Utara.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri termofilik pada air panas yang terdapat di Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen Kabupaten Simalungun Sumatera Utara.

1.4 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dilakukan penelitian ini untuk memberikan informasi ilmiah mengenai jenis bakteri yang berasal dari air panas Tinggi Raja Kecamatan Silau Kahen Kabupaten Simalungun Sumatera Utara.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Macam-Macam Bakteri di Tempat Ekstrim

Bakteri hidup dimana-mana ada yang di air, di udara, atau di tanah. Ada juga bakteri yang hidupnya ditempat-tempat yang tidak biasa, misalnya di mata air yang sangat panas, air yang sangat asin, atau lingkungan yang sangat dingin. Bakteri-bakteri ini dinamakan *Archaeobacteria*. Bakteri ini sangat sulit untuk dikembangbiakkan di dalam laboratorium.

2.1.1 Termoasidofilik

Bakteri *termoasidofilik* hidup di lubang vulkanik dan mata air yang panas serta mengandung belerang. Bakteri ini dapat bertahan hidup di lingkungan yang sangat panas, mulai dari suhu 60°C sampai 80°C. Sebagian dari bakteri tersebut bahkan ada yang tahan hidup pada suhu 150°C.

2.2 Deskripsi Bakteri Termofilik

Bakteri termofilik merupakan kelompok bakteri yang memiliki kondisi pertumbuhan optimum pada suhu tinggi. Bakteri termofilik berbeda dengan sel-sel eukariotik, karena kemampuannya untuk beradaptasi dan tumbuh pada suhu tinggi serta kondisi yang sangat ekstrim seperti salinitas tinggi (NaCl jenuh), pH ekstrim (kurang dari 2.0 dan lebih dari 10.0), dan tekanan substrat. Berdasarkan kisaran suhu pertumbuhannya, bakteri termofilik terdiri atas tiga golongan termofilik 45-65°C dan hipertermofilik 85-110°C (Agustien,2010).

Menurut proscott *et al* (2008: 138), mikroorganisme termofilik tumbuh baik pada suhu antara 55°C hingga 85°C. Pertumbuhan minimum mikroorganisme ini sekitar 45°C dan pertumbuhan optimum antara 55°C dan 65°C.

Organisme termofilik terbagi kedalam dua dominan filogenetik yang sangat berbeda, yaitu Bakteria dan Archae. Bakteri termofilik bisa hidup dominan pada habitat dengan kisaran suhu 50-90°C, sedangkan habitat dengan suhu yang lebih dari 80°C akan didominasi oleh Archaea (Kurniawati, 2012).

Di Sumatera Utara kekayaan alam berupa sumber air panas terdapat di beberapa daerah. Pada kondisi hutan, dimana daun-daunan gugur, biji-bijian, rerumputan, serbuk sari dan bangkai serangga merupakan sumber bahan organik yang dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme yang terdapat di dalam sumber air panas tersebut. Hal ini memberikan peluang besar bagi mikroorganisme termofilik penghasil enzim hidrolitik ekstraselluler seperti protease, amilase, kitinase dan xilanase pada sumber air panas tersebut. Salah satu enzim termostabil yang banyak digunakan pada industri-industri adalah enzim DNA polimerase yang biasa digunakan dalam proses PCR (Roslina, 2009).

2.2.1 Morfologi Bakteri Termofilik

Morfologi dari bakteri termofilik adalah bakteri yang bentuknya menyerupai batang atau silinder. Bakteri berukuran 0,5-5µm. Memiliki dinding sel, seperti sel tumbuhan dan jamur, tetapi dengan bahan pembentuk yang berbeda. Jenis bakteri bersifat motil (bergerak) dan mobilitasnya disebabkan oleh flagel. Hidup pada suhu yang ekstrim (Volk dan Weeler, 1973).

Bakteri berbentuk basil dapat bergandengan dua-dua yang disebut diplobasil, dan yang bergandeng panjang disebut sterptobasil. Basil yang terlepas satu dengan yang lain mempunyai ujung yang tumpul. Sedangkan yang bergandengan satu dengan yang lainnya mempunyai ujung yang runcing (Tarigan, 1988).

2.3 Habitat

Berdasarkan temperatur optimumnya bagi pertumbuhan bakteri digolongkan atas tiga bagian, yaitu :

1. Bakteri termofil, temperatur optimumnya 55°C hingga 65°C dan dapat tumbuh pada batas minimum 45°C dan batas maksimum 80°C.
2. Bakteri mesofil, temperatur optimumnya 25°C hingga 40°C dan dapat tumbuh pada batas 5°C hingga 60°C.
3. Bakteri psikrofil dapat tumbuh pada temperatur 0°C hingga 30°C dengan temperatur optimumnya 10°C hingga 20°C.

Habitat alami bakteri termofilik tersebar sangat luas di seluruh permukaan bumi. Salah satu lingkungan alaminya terbentuk akibat adanya aktifitas vulkanik atau perpindahan kerak bumi pada saat gempa tektonik. Fenomena geologi tersebut menghasilkan kawah panas yang biasanya memiliki pH netral. Bakteri termofilik ini juga dapat ditemukan di geotermal laut dalam yang memiliki kadar mineral dan salinitas yang cukup tinggi. Oleh karena itu, bakteri termofilik ini sulit diisolasi dan dikulturkan di laboratorium. Bakteri termofilik dan hipertermofilik telah berhasil diisolasi dari sumber panas bumi, Sedimen lautan geothermal, dan kawah air panas. Termofilik halofili dari laut dalam juga telah berhasil diisolasi. Salah satu jenis spesiesnya adalah *Thermus* yang dapat tumbuh dengan adanya NaCl 3% atau lebih (Sanifitri, 2007).

2.4 Identifikasi Bakteri Termofilik

Identifikasi bakteri merupakan salah satu langkah awal dari rangkaian eksplorasi dan pemanfaatan bakteri indigenous disuatu daerah. Identifikasi dapat dilakukan secara konvensional melalui karakteristik sifat biokimia dan mikroskopis sel bakteri, hingga berbasis mikroskopis (Utari, 2011).

2.5 Klasifikasi Bakteri Termofilik

Salah satu sifat fisiologi bakteri yang menentukan dalam pengklasifikasiannya adalah faktor temperatur. Temperatur yang sangat baik pada pertumbuhan bakteri disebut temperatur optimum dimana kecepatan pertumbuhan bakteri paling cepat dan menghasilkan sel paling banyak. Temperatur maksimum adalah temperatur yang paling tinggi dimana pertumbuhan bakteri dapat berlangsung, biasanya temperatur maksimum hanya beberapa derajat diatas temperatur optimum dari pertumbuhannya. Pada temperatur ini, kecepatan pertumbuhan biasanya cepat pada waktu singkat tetapi jumlah pertumbuhan, jumlah total sel yang dihasilkan tidak sebanyak temperatur optimum. Kecepatan pertumbuhan jika temperatur diperendahkan maka jauh lebih lambat dibandingkan pada temperatur optimum (Muharni, 2010).

2.6 Adaptasi Bakteri Termofilik

Kelompok bakteri termofilik secara umum mempunyai struktur sel yang memiliki beberapa kelebihan dibanding dengan kelompok bakteri lainnya. Kelompok bakteri termofilik ini umumnya memiliki daya adaptasi untuk dapat tumbuh pada suhu yang tinggi dan mempunyai enzim-enzim dan protein-protein lain yang lebih resisten terhadap panas bila dibandingkan dengan bakteri mesofil (Siti Zubaidah, 2000).

Kemampuan hidup bakteri termofilik ini berhubungan dengan struktur selnya yang memiliki kelebihan dalam beberapa hal, yaitu :

a. Struktur membran

Selain enzim dan makromolekul lain dalam sel, membran sitoplasma dari bakteri termofilik harus tahan terhadap suhu yang panas. Membran ini berfungsi sebagai pembatas antara sitoplasma dan lingkungan yang ekstraseluler (Edwards, 1990)

Menurut Madigan *et al*, (2009: 164), bakteri termofilik memiliki lipid yang kaya akan asam lemak jenuh. Struktur ini memungkinkan membran ini untuk tetap stabil dan fungsional pada suhu yang cukup tinggi. Asam lemak jenuh membentuk lingkungan hidrofobik yang lebih kuat dari pada asam lemak tak jenuh, sehingga memungkinkan membran ini lebih stabil.

b. Struktur protein sel

Enzim dan protein lain pada bakteri termofilik ini lebih tahan terhadap panas dibanding yang terdapat pada mesofilik dan berfungsi dengan optimal pada suhu yang cukup tinggi. Protein yang tahan terhadap panas pada bakteri mesofilik didukung dengan peningkatan jumlah ikatan ion antara asam amino basa dan asam, sering kali struktur yang didalamnya sangat ada hidrofobik dimana struktur inti yang hidrofobik ini menurunkan kemungkinan rusaknya ionik pada struktur protein dan protein pada organisme termofilik yang mempunyai ketahanan alami dalam cairan sitoplasma (Madigan, 2009).

Chaperonin merupakan suatu jenis protein yang tidak umum dijumpai pada protein-protein fungsional lainnya di dalam sel. Protein ini mampu berperan dalam mempertahankan atau menyusun kembali struktur tiga dimensi dari

protein fungsional sel dari denaturasi suhu lingkungan yang bersifat sangat ekstrim. Protein ini memiliki struktur yang tetap stabil, tahan terhadap denaturasi dan proteolisis (Agustina, 2008). Protein ini dapat membantu organisme termofilik mengembalikan fungsi aktivitas enzimnya bila terdenaturasi oleh suhu yang cukup tinggi (Dessy, 2008: 38).

Menurut Hartiko (1992: 25-30), bakteri termofilik juga mampu mensintesa senyawa poliamin yang unik, seperti *thermion* dan *thermospermin* yang menstabilkan perangkat sintesa protein dan melindungi makromolekul terhadap temperatur yang tinggi. Selain itu, perubahan komposisi asam amino pada protein menyebabkan peningkatan interaksi elektrostatik atau kekompakan struktur.

Substansi asam amino juga mampu menyebabkan kenaikan hidrofobisitas internal sehingga lebih tahan pada suhu tinggi (Scandurra *et al.*, 1998:933).

c. Struktur DNA

Menurut Madigan *et al.* (2009, 512), sebuah protein unik yang ditemukan pada organisme termofilik merupakan kemungkinan alasan DNA tidak terdenaturasi pada organisme ini. Semua bakteri termofilik menghasilkan topoisomerase DNA yang disebut DNA *gyrase*. DNA *gyrase* ini memberikan *supercoil* positif kedalam DNA, sehingga menstabilkan DNA terhadap panas dengan demikian mencegah denaturasi DNA heliks.

DNA *gyrase* merupakan salah satu anggota kelompok enzim topoisomerase yang berperan penting dalam mengontrol topologi DNA suatu sel dan memegang peran penting dalam proses replikasi dan transkripsi DNA. Semua

jenis topoisomerase dapat merelaksasikan DNA tetap berbentuk *supercoil* (Maxwell, 1999 *dalam* Dessy, 2008: 38).

DNA *gyrase* disusun oleh 90-150 pasangan basa nitrogen DNA. DNA *gyrase* ini juga sering dijumpai pada organisme yang hidup pada lingkungan diatas suhu 70°C dan juga dapat dijumpai pada organisme yang hidup pada suhu sekitar 60°C. DNA ini merupakan salah satu kelengkapan sel organisme termofilik (D'Amara *et al.*, 2007 *dalam* Dessy, 2008: 38).

2.7 Binomial *Thermus aquaticus*

Bakteri *Thermus aquaticus* merupakan jenis bakteri yang dapat mentolerir pada suhu tinggi, salah satu dari beberapa bakteri yang thermophilik.

Kingdom : Bacteria
Filum : Deinococcus – Thermus
Kelas : Deinococci
Ordo : Thermales
Famili : Thermaceae
Genus : Thermus
Spesies : *Thermus aquaticus* (Indrajaya, 2008)

Bakteri ini tumbuh subur pada suhu 70°C (160°F), tetapi dapat bertahan hidup pada suhu 50°C-80°C (120°F-175°F). (Brock & Freeze, 1969).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2018 s.d Januari 2019 di Laboratorium Kesehatan Sumatera Utara.

3.2 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari cawan petri, tabung reaksi, ose, hoki stik, kapas, label, lampu bunsen, indikator autoklaf, botol sampel, tabung Erlenmeyer, pipet, propipet, kurvet, thermometer, pH meter, termos, jangka sorong, mikroskop.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kapas, alkohol 70%, spiritus, aquadest, aluminium foil, kertas pH, NaCl 0,8%, safranin, kristal violet, iodin, reagen kovac (uji biokimia), media yang digunakan meliputi MB.

3.3 Metode penelitian

Metode penelitian yang digunakan adalah metode Deskriptif dengan memberikan penjelasan data yang diperoleh dari bakteri yang didapat hasil identifikasi. Penelitian ini terdiri dari lima tahapan, yang mana setiap tahapannya terdiri dari a) Preparasi sampel, tahapan ini dimulai dari pengambilan sampel yang dilakukan di sumber air panas Tinggi Raja, pengukuran parameter fisika dan kimia. b) isolasi dan pemurnian bakteri, tahapan ini dilakukan dengan cara mengambil air panas sebanyak 100 μ L dan ditambahkan kedalam 10 ml media minimal broth (MB), kemudian inkubasi selama 2 hari di dalam oven dengan suhu sekitar 55 - 70°C. c) pewarnaan gram, isolat bakteri digoreskan pada permukaan preparat steril kemudian diberi zat warna kristal violet lalu diberi larutan iodium

setelah itu ditetesi alkohol 96% sampai zat warna luntur setelah itu amati dibawah mikroskop. d) uji biokimia, dilakukannya uji Sitrat ambil 1 ose isolat bakteri terpilih lalu digoreskan pada permukaan medium SCA. Lalu dilakukannya Uji katalase, hydrogen peroksida 3% ditetaskan sebanyak 2 tetes pada kaca obyek kemudian diletak diatas obyek tersebut. Uji Fermentasi gula isolat bakteri digoreskan pada permukaan medium agar miring TSIA dan juga ditusuk tegak lurus ditengah medium. Uji gelatin dilakukan dengan menginokulasikan isolat bakteri terpilih dengan cara menusuk tegak lurus ose pada bagian tengah medium gelatin lalu amati. Uji motilitas isolat bakteri sebanyak 1 ose diinokulasikan pada medium SIM dengan menusukkannya hingga setengah medium pada tabung reaksi. Uji Reduksi Asam isolat bakteri sebanyak 1 ose diinokulasikan pada medium MR-VP kemudian diinkubasi selama 24 jam.

3.3.1 Preparasi Sampel Air Panas

Sampel diambil pada kawasan cagar alam Tinggi Rajayang termasuk kecamatan Silau Kahen, Sumatera Utara. Sampel diambil sekitar 50 ml, parameter yang diukur pada saat pengambilan sampel yaitu suhu air yang dengan menggunakan thermometer yang dicelupkan selama 1 menit pada titik pengambilan sampel setelah suhu air mencapai batas maksimal maka hasil pengukuran suhu tersebut dicatat. Selain pengukuran suhu, parameter yang kedua yaitu pengukuran pH dengan menggunakan pH universal (Merk) yang dicelupkan kepermukaan air kemudian bandingkan hasil dengan menyesuaikan standar pengukuran yang sesuai warna pH yang tertera. Sampel air sebanyak 1 liter dimasukkan kedalam thermos atau botol steril dan ditutup dengan rapat bisa menggunakan alumunium foil dan plastik yang diikat rapat menggunakan karet

yang selanjutnya sampel air tersebut dibawa ke Laboratorium Kesehatan Sumatera Utara.

3.3.2 Proses Penumbuhan Bakteri Termofilik

Proses penumbuhan bakteri pertama dari sumber air panas Tinggi Raja dengan menggunakan teknik *pour plate* (agar tuang), dimana diambil sampel airpanas dengan menggunakan mikropipet sebanyak 1 ml dan dipipetkan ke dalam cawan petri steril dan kemudian dituangkan medium MB yang sudah bersuhu $\pm 45^{\circ}\text{C}$ lalu kemudian dihomogenkan dengan cara digoyang-goyangkan secara merata dan dibiarkan memadat. Kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 24 jam.

3.3.3 Isolasi Bakteri Termofilik

Masing-masing cawan petri diamati karakteristik morfologi koloni bakteri dari tiap-tiap koloni yang berbeda. Selanjutnya tiap-tiap koloni yang beda diberi nama sesuai dengan pengamatan. Koloni-koloni bakteri yang berbeda-beda diinokulasikan kembali ke cawan petri yang berisi medium MB padat secara tuang, selanjutnya diinkubasi pada suhu 50°C selama 24 jam hingga terlihat koloni-koloni tunggal yang tumbuh.

3.3.4 Karakteristik Morfologi

Morfologi setiap koloni yang terbentuk setelah pemurnian kemudian diamati. Pengamatan yang dilakukan yaitu meliputi bentuk koloni (*shape*), bentuk tepi (*edge*), warna (*colour*) dan permukaan koloni (*elevation*).

3.3.5 Mikroskopis

Pewarnaan Gram dilakukan pada kultur bakteri umur 24 jam yang ditumbuhkan pada media MB (Minimal Broth) Isolat bakteri diambil sebanyak 1

ose dan diratakan pada objek glass yang steril. Kemudian ditambahkan 1-2 tetes air, kemudian difiksasi diatas api bunsen sampai mengering. Kemudian ditetesi zat warna kristal violet ditetesi sebanyak 1 tetes ditambahkan kepermukaan preparat yang terdapat lapisan bakteri tersebut dan didiamkan selama 1 menit. Setelah 1 menit, preparat dibilas dengan air sampai zat warna luntur. Preparat dikeringkan diatas nyala api. Setelah kering, tetesi larutan iodium sebanyak 1 tetes ditambahkan kepermukaan preparat tersebut dan didiamkan selama 1 menit. Setelah 1 menit, preparat dibilas dengan alkohol 96% sampai semua zat warna luntur kemudian dicuci dengan air. Preparat dikeringkan diatas nyala api. Setelah kering, tetesi safranin sebanyak 1 tetes selama 45 detik. Preparat dicuci dengan air dan keringkan. Preparat diamati menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x.

3.3.6 Uji Biokimia

1. Uji Sitrat

Uji sitrat dilakukan dengan cara mengambil 1 ose isolat bakteri terpilih, digoreskan pada permukaan medium *Simon Citrat Agardan* juga 1 ose isolat bakteri ditusukkan ke bagian tengah media sampai ke dasar tabung reaksi. Medium kultur tersebut diinkubasi pada suhu 65°C selama 48 jam. Perubahan warna dari hijau menjadi biru menunjukkan bahwa bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

2. Uji Katalase

Dibersihkan objek gelas, ditetaskan beberapa tetes larutan H₂O₂ 3% diatas objek gelas tersebut. Diambil sedikit biakan isolat K1 dan K2 dengan ose, diletakkan di dalam tetesan H₂O₂. Diamati adanya gelembung-gelembung O₂

3. Uji Fermentasi Gula

Koloni yang diuji dipindahkan ke agar miring TSIA dengan cara menggores bagian miringnya dan menusuk bagian tegaknya. Diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Diamati perubahan-perubahan sebagai berikut pada bagian tegak, jika bakteri dapat memfermentasikan glukosa, maka warna media berubah dari orange menjadi kuning. Koloni bakteri yang membentuk gas H₂S, warna media berubah dari orange menjadi hitam, karena bakteri mampu mendesulfurasi asam amino yang akan menghasilkan H₂S, dan H₂S akan bereaksi dengan Fe⁺² yang terdapat pada media yang dihasilkan endapan hitam.

1. Uji Hidrolisis Gelatin

Sebanyak 1 ose isolat bakteri diambil dengan menggunakan ose jarum. Kemudian diinokulasikan dengan cara ditusukkan pada media gelatin kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. kemudian diamati apakah terjadi pencairan gelatin atau tidak. Apabila terjadi pencairan gelatin berarti bakteri mampu menghasilkan *eksoenzim gelatinase*.

2. Uji Motilitas

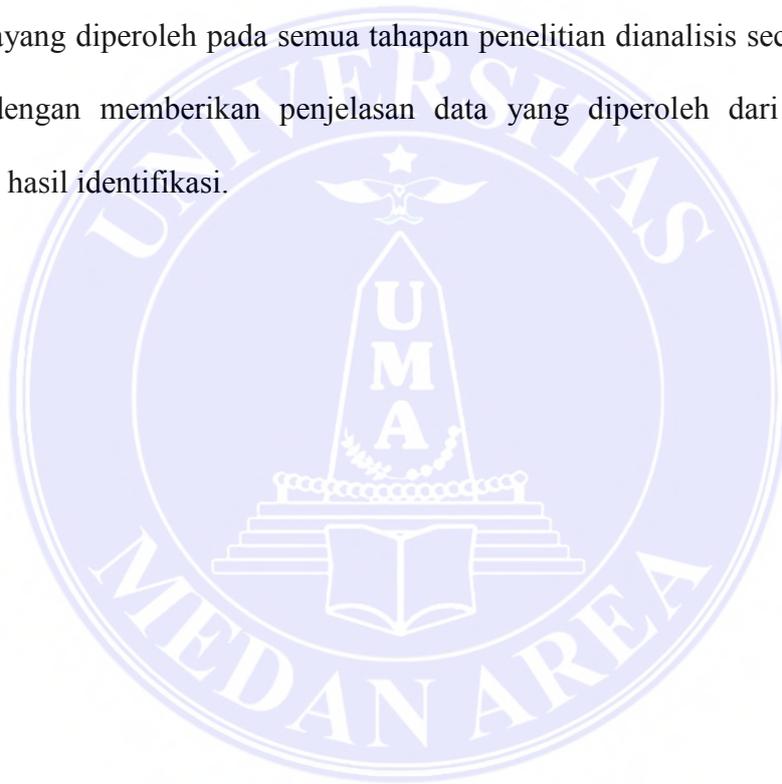
Medium SIM (*Sulf Indol Motility*) dimasukkan ke dalam dua tabung reaksi masing-masing sebanyak 10 ml, tabung pertama diisi isolat K1 dan K2 dengan cara ditusukkan, diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Bila terdapat pertumbuhan disekitar daerah tusukan berarti motilitas positif adanya jejak pergerakan bakteri.

3. Uji Reduksi Asam

Medium MR-VP dimasukkan dalam 2 tabung reaksi, masing-masing sebanyak 10 ml, tabung reaksi pertama diisi dengan isolat K2 sedangkan tabung reaksi kedua diisi isolat K2, diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 65°C. Ditambahkan 0,6 ml alfa-naftol dan 0,2 KOH 40%. Diamati perubahan yang terjadi bila terjadi warna merah berarti bakteri tersebut memproduksi asam.

3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh pada semua tahapan penelitian dianalisis secara deskriptif, yaitu dengan memberikan penjelasan data yang diperoleh dari bakteri yang didapat hasil identifikasi.



BAB V

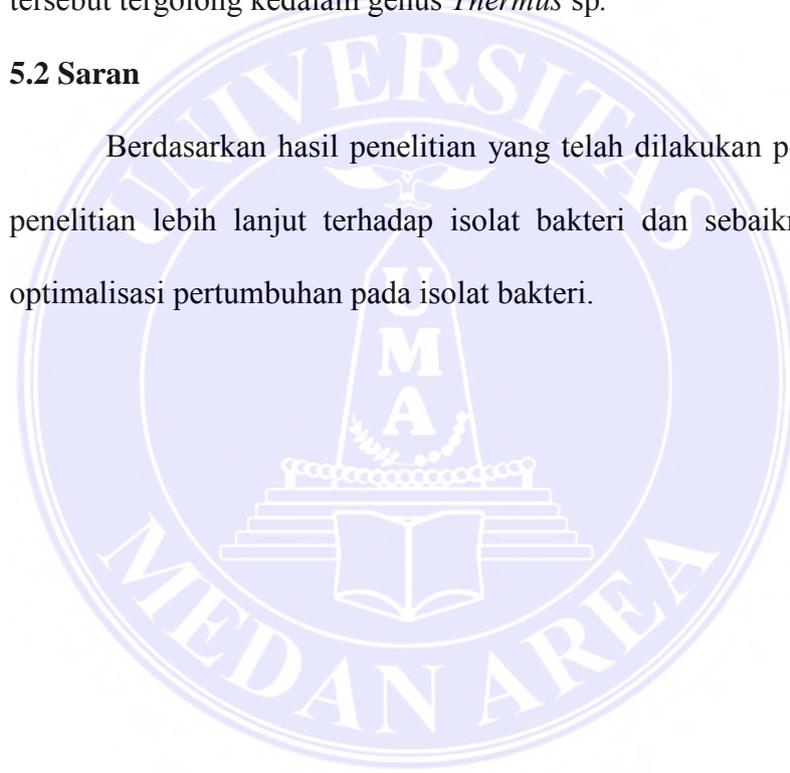
SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis dan uji biokimia terhadap kedua isolat bakteri dari sumber air panas di kawasan Cagar Alam Tinggi Raja maka dapat disimpulkan bahwa bakteri tersebut tergolong kedalam genus *Thermus* sp.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap isolat bakteri dan sebaiknya dilakukan optimalisasi pertumbuhan pada isolat bakteri.



DAFTAR PUSTAKA

- Agustien, A. 2010. *Protease Bakteri Termofilik*. UNPAD PRESS. Bandung.
- Agustina L. N. Aminim, Fida Madayanti Warganegara, Pingkan Aditiawati
- Arikunto, Suharsimi. 2006. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktis*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Bergey's W. 2015. *Manual of Systematic Bacteriology*. Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University.
- BKSDA Sumatera Utara. 2003. Laporan Evaluasi Fungsi Kawasan Cagar Alam Dolok Tinggi Raja Kabupaten Simalungun Tahun 2003 Balai Konservasi Sumber Daya Alam Sumatera Utara :18-19
- Brock, T.D. 1986. *Thermophiles: General, Molecular & Applied Microbiology*, University of Wisconsin – Madison, USA.
- Brock TD & Freeze H (1969). "Thermophilic" *Thermus aquaticus*, a Nonsporulating Extreme Thermophile" *J. fBacteriol.* **98** (1): 289-97.
- Cappucino, J.G and Sherman, N. 2002. *Microbiology A Laboratory Manual Editing 8th*. California: The Benjamin Cummings Publishing Company; 2012. P 323-327
- Cowan, S.T. 2004. *Manual for the Identification of Medical Fungi*. London: Cambridge University Press.
- Dessy, Y. 2008. Isolation & Identification of Thermophilic Microorganism from Wayang Crater, *J. Mikrobiol*, 38
- Dwidjoseputro, 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Cetakan Ke-16*. Jakarta: Djambatan.
- Edwards C., "Thermophiles". In: Edwards C (ed) *Microbiology of extreme environments*. Open University, Oxford, (1990), P1-32.
- Firliani, Widia. 2015. Thermostable Alkaline Proteases from *Bacillus brevis* and its Characterization as a Laundry Detergent Additive. *Prosess Biochemistry*, 35: 213-219.
- Gibson, J. M. 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern Untuk Perawat Cetakan Pertama Alih Bahasa IKG Somaprasada*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.

- Hartiko, K.A. 1992. Rancangan Percobaan: Teori dan Aplikasi, F.P. Universitas Sriwijaya Palembang, PT RajaGrafindo Persada, Jakarta, 8: 25-30.
- Indrajaya, Madayanti F., dan Akhmaloka. 2008. Isolasi Identifikasi Mikroorganisme Termofil Isolat. Kawah Wayang. Journal Mikrobiologi Indonesia (8).
- Kumar, Nussinov. 2001. *Isolasi Dan Optimasi Protease Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas Tangkuban Perahu Bandung*. Skripsi. IPB. Bogor.
- Khairul. 2007. Tinggi Raja Salju di Tengah Air Panas, jur (13 Maret 2005).
- Kurniawati, Dwi Heni. 2012. *Seleksi, Karakterisasi, Dan Identifikasi Isolat Bakteri Termofilik Pasca Erupsi Merapi Sebagai Penghasil Enzim Protease*. Skripsi. Universitas Negeri Yogyakarta. Yogyakarta.
- Madigan, M.T. 2009, Extremophiles Scientific American. 82-87.
- Madigan, M. T., J. M. Martinko and J. Parker. 2009. *Brock's Biology of Microorganisms*. 9th Ed. Prentice Hall Internasional, Inc. New Jersey.
- Madigan *et al* 2009, *Biology of Microorganisms*. 164.
- Marthariana, Dini. 2010. *Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Termofilik Dari Kawah Putih Gunung Pancar Bogor*. Skripsi. IPB. Bogor.
- Maxwell, S. 1998. Inquiry into Life. Boston: mc. Graw Hill. 38.
- Muharni. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penghasil Kitinase dari Sumber Air Panas Danau Ranau Sumatera Selatan*. Jurnal Penelitian Sains. Edisi Khusus Juni 2010 (D) 0:06-09.
- Ummamie, L., Erna., T.R 2017. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik*. Program Studi Fakultas Sains dan Teknologi. UIN Alauddin Makasar.
- Pelczar, M.J & E.C.S, 2008, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, 121-154, Diterjemahkan oleh Ratnasari, dkk, Edisi II, 511, UI Press, Jakarta
- Pelczar, M. dan Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Prescott. 2008. *Microbiology 7th edition*. USA: McGraw-Hill Book Company.
- Rao, Subba N.S. 2007 . *Mikrobiologi Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Diterjemahkan oleh Herawati Susilo. Jakarta: UI Press.

- Roslina, U. 2009. Skrining Bakteri Termofilik Penghasil Protease, *Buletin Teknisi Litkayasa Akuakultur*, 6.2: 146.
- Sanifitri, E.H. 2007. *Aplifikasi gen 16SrRNA Bakteri Termofilik Dari Sumber Air Panas, Gunung Pancar Bogor*. Skripsi. FMIPA IPB.
- Scandurra H, 1998. *Energi Geothermal*. Pertamina. Jakarta. 933.
- Siti, Zubaidah. 2000. *Mikrobiologi Air*. Jakarta. 66-67.
- Soemarwoto, O. 2004. *Analisis Mengenai Dampak Lingkungan*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Lay, B. W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Tarigan, P. 1988. *Proteinase. Microbial Enzyme and Biotechnology*. Applied Science Publisher. Jakarta
- Utari, Indah Budi. 2011. *Identifikasi Bakteri Termofilik Amilolitik Dari Mata Air Panas Cienang Dan Gunung Darajat, Garut*. Skripsi UPI. Diunduh dari repository.upi.edu/skripsiview.php. Tanggal 3 Maret 2013.
- Volk dan Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*, Edisi 5 Jilid 1. Erlangga. Jakarta
- Wahyuna, D. 2012. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Termoproteolitik dari Sumber Air Panas Sungai Medang*. [Skripsi]. Padang. Universitas Andalas.

Lampiran 1. Alat dan Bahan Penelitian



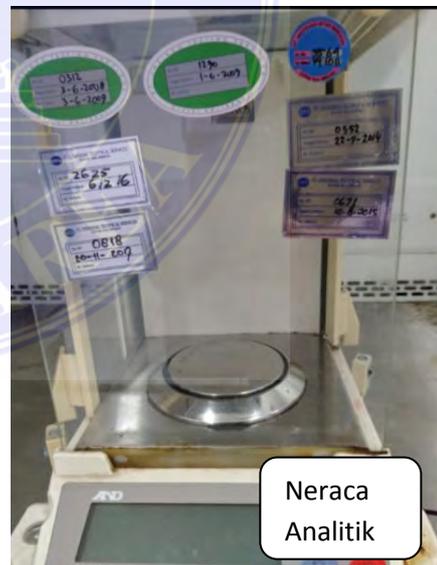
Termos



Labu Erlenmeyer



Inkubator



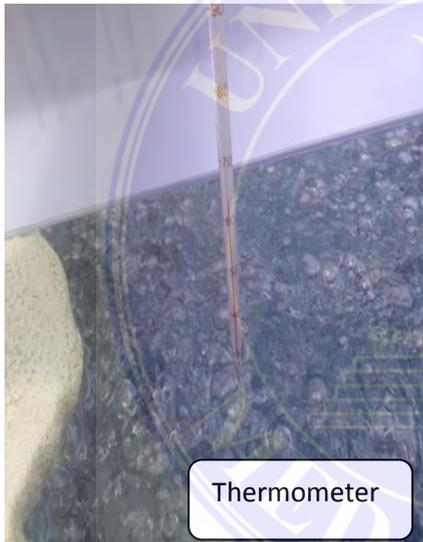
Neraca Analitik



Mikroskop



Autoklaf

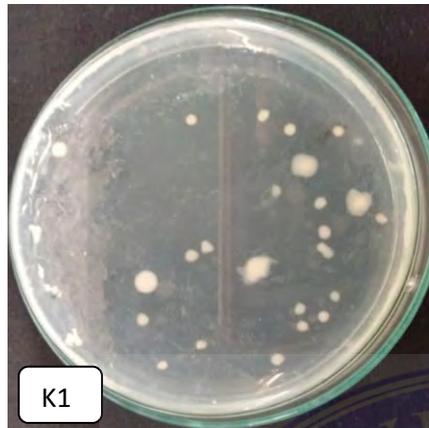


Thermometer



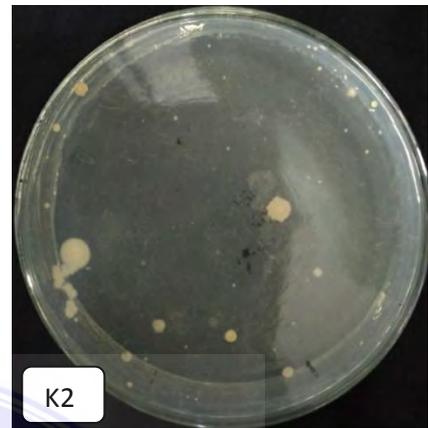
pH Universal

Lampiran 2. Hasil Isolat dari Sumber Air Panas



K1

Isolat Bakteri K1

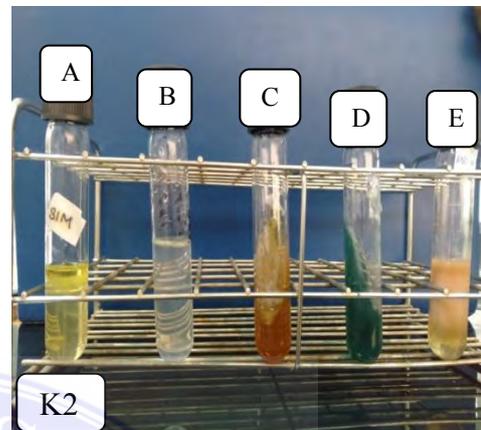


K2

Isolat Bakteri K2



Lampiran 3. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri



A : Uji reduksi asam (-)

B : Uji Hidrolisis gelatin (+)

C : Motilitas (+)

D : Uji Sitrat (-)

E : Fermentasi Gula(-)

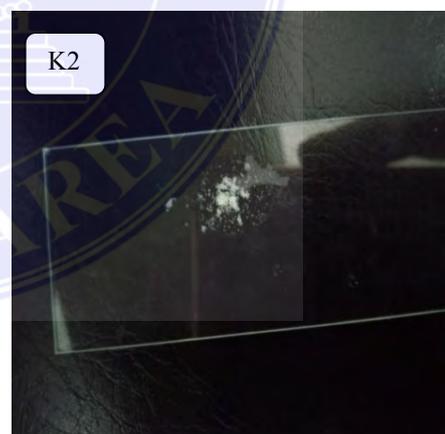
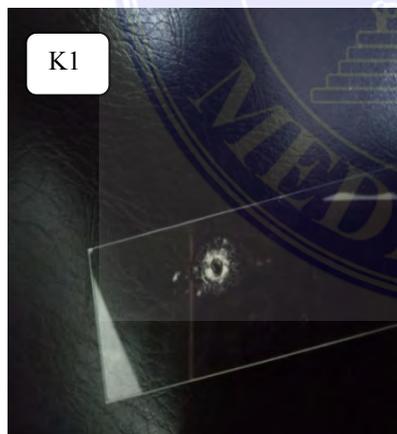
A : Motilitas(+)

B : Uji Hidrolisis gelatin (+)

C : Fermentasi Gula (-)

D : Uji Sitrat (-)

E : Uji reduksi asam (+)



Uji Katalase (+) terbentuknya gelembung

Lampiran 4. Pembuatan medium

a. Gelatin

Komposisi : (128 g/L)

Ekstrak beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Gelatin	120,0 g
Aquadest	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium gelatin sebanyak 12,8 g dilarutkan dalam 100 ml aquadest lalu selama 15-30 menit dipanaskan dengan suhu 50°C hingga membentuk larutan gelatin setelah itu disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

b. Simon Indol Motiliti (SIM)

Komposisi : (30 g/L)

Pepton dari Casein	20,0 g
Peptic Dari Daging	6,1 g
Ferri Amonium Sulfat	0,2 g
Natrium Thiosulfat	0,2 g
Agar	3,5 g
Aquadest	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium SIM sebanyak 3 g dilarutkan dalam 100 ml aquadest lalu dipanaskan diatas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

c. Simon Citrat Agar (SCA)

Komposisi : (35 g/L)

Natrium Citrat	2,0g
NaCl	5,0g
Dikalium Hydrogen Pospat	1,0g
Ammonium Dihidrogen Pospat	1,0g
Magnesium Sulfat	0,2g
Brom Timol Biru	0,08 g

Agar	15,0 g
Aquadest	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium simon citrat agar sebanyak 3,5 g dilarutkan dalam 100 ml aquadest dipanaskan diatas penangas air hingga melarut. Disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

d. MR-VP

Komposisi : (32 g/L)

Polypepton	7,0 g
Dextrose	5,0 g
Dapar Dikalium Pospat	5,0 g
Aquadest	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium MR-VP sebanyak 3,2 g dilarutkan bahan tersebut dalam 100 ml aquadest dan dipanaskan diatas penangas air hingga melarut pada suhu 50°C. Distresilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

e. MB (Minimal Broth)

Komposisi : (23 g/L)

Ekstrak Beef	3,0 g
Pepton	5,0 g
Agar	15,0 g
Aquadest	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang bahan sebanyak 23,0 g dilarutkan dalam 1000 ml sampai larut, kemudian distresilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

f. TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Komposisi : (35 g/L)

Lab-lemco power	3,0 g
Yeast extract	3,0 g
Peptone	20,0 g
Sodium chloride	5,0 g
Ferri citrace	0,3 g

Sodium thiosulphate	0,3 g
Phenol red	0,5 g
Agar	10,0 g
Glucose	10,0 g
Lactose	10,0 g
Sucrose	10,0 g
Aquadest	1000 ml

Pembuatan :

Ditimbang medium TSIA sebanyak 3,5 g dilarutkan bahan tersebut dalam 100 ml aquadest dan dipanaskan diatas penangas air hingga melarut pada suhu 50°C. Distresilkan pada suhu 121°C selama 15 menit.

