

RINGKASAN

Bakteri termofilik merupakan mikroorganisme yang mampu hidup pada suhu 45-80°C, dan dapat menjadi sumber senyawa bioaktif alami salah satunya antibiotik. Namun seiringnya pemakaian antibiotik secara masif menimbulkan resistensi antibiotik. Untuk menangani masalah resistensi antibiotik, salah satunya dengan melakukan pencarian senyawa antibakteri dari lingkungan ekstrem. Salah satu lingkungan ekstrem yang dapat menjadi sumber pencarian antibakteri adalah sumber air panas. Sumber air panas Pancuran Pitu memiliki kandungan belerang yang menjadi pemicu dihasilkannya senyawa bioaktif baru. Tujuan penelitian ini untuk mengisolasi bakteri termofilik yang berasal dari sumber air panas Pancuran Pitu, Baturraden yang memiliki aktivitas antibakteri.

Penelitian ini menggunakan metode survei dengan mengisolasi bakteri termofilik dari air, dan sedimen sumber air panas Pancuran Pitu. Bakteri yang diperoleh dimurnikan dan diuji tantang dengan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Pseudomonas aeruginosa* untuk mengetahui kemampuan penghambatannya. Isolat yang menunjukkan aktivitas antibakteri kemudian diidentifikasi secara morfologi, biokimiawi, fisiologi, dan molekuler. Deteksi senyawa antibakteri dari isolat terpilih dilakukan uji bioautografi dan KLT. Spot yang menunjukkan penghambatan terhadap bakteri uji dikumpulkan dan dianalisis menggunakan GC-MS untuk memprediksi struktur molekul. Variabel bebas penelitian adalah isolat bakteri termofilik dan variabel terikat penelitian berupa kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Parameter utama yang diukur adalah diameter zona hambat, golongan senyawa bioaktif, dan identitas bakteri. Parameter pendukung terdiri atas faktor lingkungan asal sampel, nilai *retardation factor* (Rf) bercak pada plat KLT dan nilai Rf pada bioautografi.

Sebanyak lima isolat bakteri termofilik berhasil diisolasi, yaitu isolat PPA1, PPA2, PPA2M, PPS1 dan PPS2 dengan morfologi koloni yang berbeda. Hasil skrining antibakteri, diperoleh tiga isolat yang bersifat antibakteri yaitu isolat PPA2, PPA2M, dan PPS2. Ekstrak etil asetat dari isolat PPA2, PPA2M, dan PPS2 menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus*, *S.epidermidis*, dan *P.aeruginosa*. Zona hambat yang dihasilkan oleh PPA2, PPA2M, dan PPS2

terhadap *P.aeruginosa* sebesar 13,79-14,6mm, *S.aureus* sebesar 11,68-12,63mm sedangkan terhadap *S.epidermidis* cenderung lebih rendah yaitu 7,6-9,33mm. Hasil KLT isolat PPA2, PPA2M, dan PPS2 menunjukkan keberadaan senyawa utama dengan nilai Rf berkisar antara 0,15–0,84 dan diprediksi merupakan senyawa flavonoid polar dan non polar. Hasil bioautografi memperkuat aktivitas antibakteri pada fraksi-fraksi tertentu. Analisis GC-MS menunjukkan senyawa dominan berupa asam lemak yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil identifikasi secara fenetik menunjukkan ketiga isolat bersifat Gram positif, dan bentuk sel berupa batang. Hasil identifikasi secara molekuler terhadap menunjukkan bahwa ketiga isolat memiliki kekerabatan tinggi terhadap *Bacillus licheniformis* strain BRCR 11702 dengan persentase berbeda. Isolat PPA2 memiliki persentase sebesar 99,08%, isolat PPA2M memiliki kemiripan sebesar 98,54% dan isolat PPS2 menunjukkan kesamaan 99,30%.

Kata kunci: *Antibakteri, Bakteri Termofilik, Identifikasi, Isolasi*



SUMMARY

Thermophilic bacteria are microorganisms that can live at temperatures of 45-80°C and can be a source of natural bioactive compounds, one of which is antibiotics. However, the massive use of antibiotics has led to antibiotic resistance. To address the problem of antibiotic resistance, one solution is to search for antibacterial compounds from extreme environments. One extreme environment that can be a source of antibacterial compounds is hot springs. The Pancuran Pitu hot spring contains sulfur, which triggers the production of new bioactive compounds. The objective of this study is to isolate thermophilic bacteria from the Pancuran Pitu hot spring in Baturraden that have antibacterial activity.

This study used a survey method to isolate thermophilic bacteria from water and sediment samples of the Pancuran Pitu hot spring. The obtained bacteria were purified and tested against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, and *Pseudomonas aeruginosa* to determine their inhibitory capacity. Isolates showing antibacterial activity were then identified morphologically, biochemically, physiologically, and molecularly. Detection of antibacterial compounds from selected isolates was performed using bioautography and TLC. Spots showing inhibition against test bacteria were collected and analyzed using GC-MS to predict molecular structure. The variables in this study were thermophilic bacterial isolates, and the dependent variable was the ability to inhibit the growth of pathogenic bacteria. The main parameters measured were the diameter of the inhibition zone, the class of bioactive compounds, and the identity of the bacteria. Supporting parameters included environmental factors of the sample origin, retention factor (Rf) values of spots on the TLC plate, and Rf values in bioautography.

A total of five thermophilic bacterial isolates were successfully isolated, namely isolates PPA1, PPA2, PPA2M, PPS1, and PPS2, with different colony morphologies. The antibacterial screening results identified three antibacterial isolates: PPA2, PPA2M, and PPS2. The ethyl acetate extracts from PPA2, PPA2M, and PPS2 exhibited antibacterial activity against *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *P. aeruginosa*. The inhibition zones produced by PPA2, PPA2M, and PPS2 against *P. aeruginosa* were 13.79–14.6 mm, against *S. aureus* were 11.68–12.63 mm, while

against *S. epidermidis* were lower at 7.6–9.33 mm. The TLC results of the PPA2, PPA2M, and PPS2 isolates showed the presence of main compounds with R_f values ranging from 0.15 to 0.84, predicted to be polar and non-polar flavonoids. Bioautography testing confirmed that some fractions separated by TLC retained their antibacterial activity. Bioautography results reinforce the antibacterial activity of certain fractions. GC-MS analysis shows dominant compounds in the form of fatty acids with potential antibacterial activity. Phenotypic identification results indicate that all three isolates are Gram-positive and have rod-shaped cells. Molecular identification results showed that the three isolates have a high degree of relatedness to *Bacillus licheniformis* strain BRCC 11702 with varying percentages. Isolate PPA2 has a percentage of 99.08%, isolate PPA2M has a similarity of 98.54%, and isolate PPS2 shows a similarity of 99.30%.

Keywords: *Antibacterial, Identification, Isolation, Thermophilic Bacteria*

