

KARAKTERISASI ISOLAT TP04 BERDASARKAN UJI FISILOGI DAN BOKIMIA DALAM PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

CHARACTERIZATION OF ISOLATE TP04 BASED ON PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL TESTS IN MICROBIOLOGY PRACTICUM

Sonia¹⁾, Dinda Reha²⁾, Selvina Yuliasari³⁾, An'nisa Ferbet⁴⁾, Muhammad Hafidzin⁵⁾, Siti Soleha⁶⁾

^{1,2,3,4,5,6)}Prodi Biologi, Fakultas Sains Dan Teknologi, Universitas Raden Fatah Palembang
Jl. Pangeran Ratu, 5 Ulu, Kecamatan Seberang Ulu I, Kota Palembang, Sumatera Selatan 30252

Email: sitsoleha@radenfatah.ac.id

ABSTRACT

Physiological and biochemical approaches in bacterial characterization are more accurate methods than identification based on morphological characters. This study aims to characterize the physiology and biochemistry of isolate TP04 through a series of standard microbiology tests. The study was conducted on April 30, 2025 at the Integrated Microbiology Laboratory of Raden Fatah State Islamic University, Palembang using bacterial isolates with the code TP04. The research methods include oxygen requirement tests, indole, catalase, citrate, urease, carbohydrate fermentation tests, and MR-VP (Methyl Red-Voges Proskauer) tests. The results showed that isolate TP04 is a facultative anaerobic bacteria with the characteristics of VP (-), urease (+), SIM (-), citrate (-), MR (+), and catalase (-). In the carbohydrate fermentation test, the isolate showed positive results for glucose, sucrose, and lactose, but negative for mannitol. The combination of physiological and biochemical test results indicates that isolate TP04 has specific metabolic abilities that can be used for bacterial identification and has the potential for applications in the environmental or biotechnology fields..

Keywords: *Facultative anaerobe, Isolate TP04, Biochemical characteristics, Physiological characterization.*

ABSTRAK

Pendekatan fisiologi dan biokimia dalam karakterisasi bakteri merupakan metode yang lebih akurat dibandingkan identifikasi berdasarkan karakter morfologi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik fisiologi dan biokimia isolat TP04 melalui serangkaian uji standar mikrobiologi. Penelitian dilakukan pada bulan April 2025 di Laboratorium Terpadu Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang menggunakan isolat bakteri dengan kode TP04. Metode penelitian meliputi uji kebutuhan oksigen, uji indol, katalase, sitrat, urease, fermentasi karbohidrat, dan uji MR-VP (Methyl Red-Voges Proskauer). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat TP04 merupakan bakteri anaerob fakultatif dengan memiliki karakteristik VP (-), urease (+), SIM (-), sitrat (-), MR (+), dan katalase (-). Pada uji fermentasi karbohidrat, isolat menunjukkan hasil positif terhadap glukosa, sukrosa, dan laktosa, namun negatif terhadap manitol. Kombinasi hasil uji fisiologi dan biokimia ini mengindikasikan bahwa isolat TP04 memiliki kemampuan metabolik spesifik yang dapat digunakan untuk identifikasi bakteri dan berpotensi untuk aplikasi dalam bidang lingkungan atau bioteknologi.

Keywords: *Anaerob fakultatif, Isolat TP04, Karakterisasi biokimia bakteri, Karakterisasi fisiologi.*

PENDAHULUAN

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme prokariotik yang memiliki keragaman metabolisme dan fisiologi yang sangat luas. Setiap spesies bakteri menunjukkan pola metabolik dan enzimatik yang khas sebagai bentuk adaptasi terhadap lingkungan tempat hidupnya. Oleh karena itu, identifikasi dan karakterisasi bakteri tidak hanya mengandalkan morfologi, tetapi juga memerlukan pendekatan fisiologi dan biokimia sebagai metode yang lebih akurat untuk menentukan identitas dan potensi fungsionalnya (Madigan *et al.*, 2018).

Uji fisiologi merupakan serangkaian pengujian yang bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan bakteri dalam beradaptasi terhadap berbagai kondisi lingkungan, seperti suhu ekstrem, salinitas tinggi, dan pH rendah atau tinggi. Respons fisiologis ini mencerminkan keberadaan sistem metabolik dan struktural tertentu dalam sel bakteri yang mendukung kelangsungan hidupnya (Chaudhary *dkk.*, 2019). Pengujian fisiologis mencakup toleransi terhadap suhu (mesofilik, termofilik), kebutuhan oksigen (aerob, anaerob), dan toleransi terhadap garam (halotoleran). Setiap kelompok bakteri memiliki ciri khas fisiologis yang dapat digunakan untuk klasifikasi dan pengenalan potensi aplikatifnya (Willey *et al.*, 2022).

Sementara itu, uji biokimia bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas enzimatik spesifik, seperti kemampuan bakteri dalam memfermentasi karbohidrat, memecah protein atau urea, dan memanfaatkan substrat tertentu sebagai sumber karbon atau nitrogen. Metode ini berguna dalam membedakan antara spesies dengan karakteristik morfologi yang serupa, terutama melalui pola reaksi terhadap substrat seperti gula, urea, atau sitrat. Uji seperti IMVC (Indole, Methyl Red, Voges-Proskauer, Citrate), katalase, oksidase, dan urease merupakan bagian dari prosedur standar dalam laboratorium mikrobiologi untuk membedakan antar spesies bakteri, khususnya pada genus *Enterobacteriaceae* dan *Staphylococcus* (Mahmoud *et al.*, 2020).

Uji biokimia dilakukan untuk mengidentifikasi enzim yang diproduksi oleh bakteri serta jalur metabolisme yang digunakan. Beberapa uji biokimia yang umum dilakukan antara lain uji fermentasi karbohidrat untuk menguji kemampuan bakteri dalam memfermentasi gula tertentu, seperti glukosa, laktosa, dan sukrosa, Uji Katalase untuk mendeteksi keberadaan enzim katalase yang menguraikan peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen, Uji Oksidase untuk menentukan adanya enzim sitokrom oksidase dalam rantai. Uji Indol untuk menguji kemampuan bakteri dalam menguraikan triptofan menjadi indol. Uji MR-VP (*Methyl Red- Voges Proskauer*) untuk membedakan bakteri berdasarkan jalur fermentasi glukosa. Uji Sitrat untuk Menentukan kemampuan bakteri dalam menggunakan sitrat sebagai sumber karbon Uji Urease Menguji kemampuan bakteri dalam menghidrolisis urea menjadi dan karbon dioksida. Pentingnya karakteristik tersebut untuk proses identifikasi, maka studi karakterisasi sifat fisiologi dan biokimia isolate TP04 harus dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik fisiologi dan biokimia isolat TP04.

METODE PENELITIAN

Adapun kegiatan penelitian fisiologi mikroba tentang uji fisiologi dan biokimia bakteri tanggal 30 April 2025 dilaboratorium terpadu mikrobiologi Universitas Islam Negeri Raden Fatah Palembang. Penelitian ini bersifat deskriptif dan eksperimental, yang bertujuan untuk mengkarakterisasi sifat fisiologis dan biokimia dari bakteri isolat TP04 dengan serangkaian uji mikrobiologi standar.

Alat yang digunakan dalam praktikum ini adalah tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, jarum ose, kaca objek, tabung durham, Bunsen, autoklaf, incubator, neraca analitik. Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah pada praktikum ini terdiri dari isolate bakteri *TP04* media Nutrient broth (NB), akuades, media Sulfur Indol Motility (SIM), reagen kovacs, H₂O₂ 3%, reagen Barrit A (o-naphtol) reagen Barrit B (KOH 40%), media MR-VP, methyl red, media Simmons Citrate, urea agar, bactopecton, NaCl, glukosa, sukrosa, laktosa, dan bromothymol blue

Karakterisasi Isolat Bakteri TP04

Serangkaian uji fisiologis dan biokimia untuk mengidentifikasi karakter fenotipik dari isolat bakteri asam laktat. Uji kebutuhan oksigen dilakukan dengan cara menginokulasikan isolat ke dalam media Nutrient Broth (NB) sebanyak 60 ml yang telah disterilkan, kemudian diinkubasi pada suhu optimum selama 24–48 jam untuk mengamati pola pertumbuhan bakteri dalam lingkungan aerobik. Kemampuan bakteri dalam memproduksi indol dianalisis menggunakan media SIM (Sulfur Indol Motility). Isolat diinokulasikan secara tusuk menggunakan jarum ose lurus ke bagian tengah media SIM, kemudian diinkubasi dan ditetesi reagen Kovac sebanyak 10 tetes; pembentukan cincin merah pada permukaan media menandakan hasil positif.

Uji aktivitas enzim katalase dilakukan dengan menambahkan dua tetes larutan hidrogen peroksida (H₂O₂) ke atas preparat bakteri yang telah digoreskan di kaca objek, kemudian diamati adanya gelembung oksigen sebagai indikasi aktivitas katalase. Pengujian kemampuan metabolisme sitrat dilakukan menggunakan media Simmon's Citrate agar yang telah dibuat dalam tabung miring. Isolat diinokulasikan secara aseptik dengan metode gores zig-zag, lalu diinkubasi untuk mengamati perubahan warna media menjadi biru sebagai indikator kemampuan memanfaatkan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon.

Selanjutnya, uji aktivitas enzim urease dilakukan dengan menggunakan media urea agar. Media tersebut dituangkan ke dalam tabung miring, diinokulasi dengan isolat, kemudian diinkubasi. Perubahan warna media menjadi merah muda menunjukkan aktivitas positif enzim urease. Uji fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menyiapkan media cair yang mengandung pepton (0,5 g), nacl (0,25 g), sumber gula tertentu (0,5 g), serta indikator ph bromothymol blue (10 tetes). Isolat diinokulasikan ke dalam media, kemudian diinkubasi untuk mengamati perubahan warna dan pembentukan gas sebagai indikator fermentasi.

Terakhir, uji MR-VP dilakukan untuk mengevaluasi jalur fermentasi glukosa yang digunakan oleh bakteri. Media MR-VP disiapkan dengan melarutkan 1,02 gram media dalam 60 ml aquades, kemudian disterilkan. Isolat diinokulasi ke dalam media, diinkubasi selama 48 jam, dan selanjutnya dilakukan penambahan reagen Methyl Red (MR) untuk menguji keberadaan asam kuat, atau reagen Voges-Proskauer (VP) untuk mendeteksi asetoin sebagai hasil fermentasi butilen glikol. Seluruh prosedur dilakukan secara aseptik untuk menjaga keakuratan hasil dan mencegah kontaminasi silang.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Hasil praktikum mengenai uji fisiologi dan biokimia pada isolat bakteri TP04 menunjukkan adanya perbedaan kemampuan metabolik bakteri dalam berbagai pengujian yang dilakukan. Hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia isolat bakteri dengan kode TP04, dapat disimpulkan bahwa isolat ini menunjukkan hasil negatif pada beberapa uji seperti Voges-Proskauer (VP), SIM (Sulfur, Indol, Motilitas), Simmon's Citrate (SC), motilitas, dan katalase, yang mengindikasikan bahwa isolat tersebut tidak memproduksi senyawa-senyawa terkait atau tidak mampu melakukan reaksi-reaksi yang diuji.

Tabel 1. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia Isolat TP04

Isolat	Pengujian										
	VP	Urea	SIM	SC	MR	Kebutuhan oksigen	Katalase	Gula-Gula			
								G	S	M	L
TP04	-	+	-	-	+	Anaerob fakultatif	-	+	+	-	+

Hasil positif terlihat pada uji urease dan Methyl Red (MR), yang menunjukkan bahwa isolat ini mampu memecah urea menjadi amonia serta mampu melakukan fermentasi glukosa dengan produksi asam yang stabil. Uji MR positif juga dapat menunjukkan bahwa bakteri ini kemungkinan termasuk ke dalam kelompok fermentatif campuran. Uji Methyl Red (MR) menunjukkan hasil positif (+), yang menunjukkan bahwa bakteri ini dapat melakukan fermentasi glukosa menghasilkan asam yang menyebabkan penurunan pH dalam media. Hal ini menandakan bahwa bakteri ini adalah pemfermentasi asam kuat (Tortora *et al.*, 2020).

Pada uji fermentasi gula, isolat TP04 menunjukkan kemampuan fermentasi terhadap glukosa (G), sukrosa (S), dan laktosa (L) yang ditunjukkan dengan hasil positif, sedangkan hasil negatif terlihat pada manitol (M). Hal ini menunjukkan bahwa isolat ini memiliki enzim-enzim yang mampu memetabolisme beberapa jenis gula tertentu, namun

tidak mampu memetabolisme manitol. Hasil fermentasi ini berguna dalam identifikasi spesies bakteri karena pola fermentasi gula bersifat spesifik terhadap jenis bakteri tertentu. Kombinasi hasil uji ini dapat digunakan untuk menyempitkan kemungkinan identitas bakteri dan dapat dibandingkan dengan data referensi untuk menentukan genus atau spesies dari isolat TP04.

Dalam pengujian fermentasi gula: glukosa (G), sukrosa (S), dan laktosa (L) menunjukkan hasil positif (+), sedangkan manitol (M) negatif (-). Silva (2023) menyatakan bahwa profil fermentasi gula sangat penting untuk identifikasi spesies bakteri dan menentukan bagaimana mereka memanfaatkan sumber energi. Bakteri seperti TP04 yang mampu memfermentasi beberapa jenis gula cenderung memiliki fleksibilitas metabolik yang baik dalam lingkungan tertentu (Silva, 2023).

Berdasarkan hasil pengujian, isolat TP04 menunjukkan hasil negatif (-) pada media Simon Citrate, yang berarti bakteri ini tidak mampu menggunakan sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat tersebut kemungkinan tidak memiliki enzim sitrat permease yang dibutuhkan untuk memasukkan sitrat ke dalam sel dan memanfaatkannya dalam metabolisme. Ciri seperti ini umum ditemukan pada bakteri seperti *E. coli*, yang dikenal memiliki kemampuan terbatas dalam penggunaan substrat sitrat. Informasi ini penting sebagai penanda pembeda dalam proses identifikasi mikroba, khususnya dalam kelompok Enterobacteriaceae (Prescott *et al.*, 2021).

Isolat TP04 tergolong sebagai bakteri anaerob fakultatif, yaitu mikroorganisme yang dapat bertahan hidup baik di lingkungan yang mengandung oksigen maupun yang tidak. Dalam kondisi kaya oksigen, bakteri ini mampu menjalankan respirasi aerob, sedangkan pada lingkungan tanpa oksigen, ia dapat beralih ke jalur fermentasi untuk memperoleh energi. Fleksibilitas ini menunjukkan adaptasi metabolik yang efisien dan sering ditemukan pada bakteri yang hidup di sistem pencernaan atau lingkungan dengan fluktuasi oksigen, seperti *Enterobacter* atau *Salmonella* (Willey *et al.*, 2022).

Uji (VP) menunjukkan hasil negatif (-), yang menandakan isolat TP04 tidak menghasilkan asetoin dari glukosa. Sebaliknya, uji Methyl Red (MR) menunjukkan hasil positif (+), mengindikasikan bahwa bakteri ini melakukan fermentasi campuran yang menghasilkan asam kuat dan menurunkan pH secara signifikan. Dalam hal ini, Mahmoud (2020) menjelaskan bahwa kemampuan mikroorganisme dalam menghasilkan metabolit asam berkaitan erat dengan potensi antagonistiknya terhadap mikroba lain, terutama dalam lingkungan kompetitif. Uji Urease yang positif (+) menunjukkan isolat TP04 mampu menghidrolisis urea menjadi amonia dan karbon dioksida (Mahmoud, 2020).

Uji SIM (Sulfur, Indole, Motility) negatif (-) berarti tidak ada produksi hidrogen sulfida, indole, maupun gerakan motil. Uji SC (Sitrat) negatif (-) menandakan bahwa isolat tidak dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon tunggal. Hasil motilitas yang negatif juga mendukung bahwa bakteri ini non-motil. Menurut Prestinaci (2021), karakter-karakter ini dapat digunakan untuk mengelompokkan bakteri berdasarkan adaptasi fisiologinya di lingkungan, termasuk kemampuan bertahan di kondisi anaerob dan ketersediaan nutrisi

terbatas (Prestinaci, 2021).

Uji katalase negatif (-) menunjukkan isolat tidak memiliki enzim katalase untuk menguraikan hidrogen peroksida, menandakan isolat mungkin sensitif terhadap kondisi oksidatif. Hasil negatif pada uji katalase sering ditemukan pada bakteri anaerobik atau bakteri yang tidak menggunakan oksigen dalam metabolisme mereka (Sengupta *et al.*, 2020).

Karakter fisiologi dan biokimia suatu isolat mencerminkan ekologi mikroba dan potensi aplikasinya, baik dalam bidang medis, industri, maupun pertanian. Kombinasi hasil karakterisasi isolate TP04 seperti kemampuan fermentasi gula, produksi asam kuat (MR+), dan urease positif mengindikasikan bahwa isolat ini mungkin termasuk bakteri yang kompetitif dan memiliki potensi dalam aplikasi biokontrol atau dekomposisi bahan organik (Zhang, 2022).

PENUTUP

Berdasarkan hasil uji fisiologi dan biokimia, isolat bakteri TP04 menunjukkan karakter sebagai anaerob fakultatif, mampu memfermentasi glukosa, sukrosa, dan laktosa, serta menghasilkan asam kuat (MR⁺) dan enzim urease. Isolat tidak mampu memproduksi indol, menggunakan sitrat, maupun menghasilkan katalase dan asetoin. Karakter ini menunjukkan isolat TP04 memiliki kemampuan metabolik spesifik yang berguna untuk identifikasi dan berpotensi diaplikasikan dalam bidang lingkungan atau bioteknologi.

REFERENSI

- Chaudhary, D. K., Kim, J., & Kim, M. S. (2019). Bacterial physiology and adaptation in extreme environments: A review. *Journal of Basic Microbiology*, 59(5), 401–412.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2018). *Brock Biology of Microorganisms* (15th ed.). Pearson.
- Mahmoud, H. M., & Kalendar, A. A. (2020). Comparative study of biochemical tests and 16S rRNA sequencing for identification of pathogenic bacteria. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 588-594.
- Prescott, L. M., Klein, D. A., & Harley, J. P. (2021). *Microbiology (11th ed.)*. McGraw-Hill Education.
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2021). *Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon*. *Pathogens and Global Health*, 115(3), 145–152.
- Sengupta, M., Kumar, M., & Das, J. (2020). Role of physiological and biochemical characterization in microbial identification. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9(7), 1541–1550.
- Silva, L. P., et al. (2023). *Advances in bacterial physiology testing using microfluidics and biosensors*. *Biosensors and Bioelectronics*, 220, 114876.

Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2020). *Microbiology: An Introduction (13th ed.)*. Pearson Education.

Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2022). *Prescott's Microbiology (11th ed.)*. McGraw-Hill Education.

Zhang, X., et al. (2022). Metabolic and physiological adaptations of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilm versus planktonic lifestyles. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(4), e01234-21.