

**Komunikasi Pendek/Short Communication**

**Pengenalpastian Mikroflora Bakteria selain *Bacillus sp.* dari Kolam Air Panas  
Bentong, Pahang, Malaysia**

(Identification of Bacterial Flora other than *Bacillus sp.* from Bentong Hot Spring in Pahang, Malaysia)

ABDUL HAMID ABDUL AZIZ, NUR FARIZA MAT REFFIN, MOHAMED KAMEL ABD GHANI, HING HIANG LIAN &  
AHMAD ZORIN SAHALAN

ABSTRAK

Suatu kajian mengenai pemencilan dan pengenalpastian mikroflora bakteria dari kolam air panas telah dilakukan di kolam air panas Bentong, Pahang. Kebanyakan bakteria yang dipencil dari kolam air panas adalah dari *Bacillus sp.* kerana ia mempunyai ciri adaptasi yang membolehkannya hidup di kawasan suhu yang tinggi dengan pembentukan endospora. Objektif kajian adalah untuk mengenal pasti spesies bakteria selain daripada spesies *Bacillus sp.* yang boleh dipencilkan dari kolam air panas. Tiga buah kolam air panas (A, B dan C) dikenal pasti dengan julat suhunya antara 36°C-52°C dan nilai pH antara 7.88-8.65. Kajian ini telah berjaya memencilkan dua pencilan bakteria kokus Gram positif dan tiga spesies basilus Gram negatif. Spesies Gram positif tersebut adalah dari genus *Streptococcus* dan *Staphylococcus*, manakala bagi Gram negatif pula terdapat masalah dalam pengenalpastian dan hanya dikenali sebagai X, XI and XII.

Kata kunci: Kolam air panas, Kokus Gram positif, Gram negatif, Malaysia

ABSTRACT

A study on the isolation and identification of bacterial flora from hot spring was carried out using water from Bentong hot spring in Pahang. In general most of the bacteria identified from the hot springs were from *Bacillus sp.* This was due to its ability to adapt to high temperature mainly by forming endospore. The objective of this study was to identify bacteria other than *Bacillus* that were able to survive in hot springs. Three hot spring pools were identified (A, B and C) with temperatures ranging from 36°C to 52°C and pH values between 7.88-8.65. This study has successfully isolated two species of Gram positive cocci and three species of Gram negative bacilli. The two Gram positives were *Streptococcus sp.* and *Staphylococcus sp.* The three species of Gram negative rods were unidentified and were denoted as X, XI and XII.

Keywords: Hot spring water, Gram positive cocci, Gram negative, Malaysia

Kepelbagaian hidupan yang sangat besar boleh dikaitkan dengan keupayaan prokariot untuk hidup di persekitaran yang ekstrim, seperti persekitaran dengan suhu yang tinggi, hingga mencapai 121°C, yang dirujuk sebagai termal, termobiotik atau persekitaran yang panas (Averhoff et al. 2010). Kolam air panas merupakan takungan air yang berlaku akibat resapan air keluar dari tanah ataupun dikenali sebagai mata air panas. Di Malaysia, kolam air panas sering dikunjungi oleh orang ramai dan air kolam dipercayai dapat menyembuhkan pelbagai penyakit kulit seperti kurap dan panau.

Bakteria yang mampu hidup di persekitaran air panas dikenali sebagai termofilik. Ia merupakan persekitaran ekstrim yang mempunyai suhu antara 45-80°C. Manakala suhu pertumbuhan untuk bakteria hipertermofilik melebihi 80°C (Farkas et al. 2011). Termofilik pula boleh dibahagikan kepada termotoleran, termofilik dan termofilik ekstrim. Termotoleran mempunyai pertumbuhan yang optimum pada suhu mesofilik tetapi mempunyai suhu pertumbuhan maksimum melebihi 50°C. Termofilik pula mempunyai

suhu pertumbuhan optimum antara 50-70°C manakala termofilik ekstrim pula mempunyai suhu pertumbuhan optimum melebihi 70°C. Seseengah bakteria termofilik, khususnya bakteria basilus Gram positif (Mahdavi et al. 2011) akan menghasilkan endospora yang sangat rintang haba. Menurut kajian yang dilakukan oleh Moriello et al. (2003) mereka mendapati satu strain bakteria termofilik yang dipencilkan dari pasir pantai di Itali menghasilkan polisakarida eksoselular dalam jumlah yang agak banyak. Polisakarida ini mampu untuk menjadikan bakteria tahan terhadap suhu tinggi.

Oleh kerana kebanyakan kolam air panas dikolonisasi oleh bakteria basilus, kehadiran bakteria selain *Bacillus sp.* tidak diketahui dengan begitu baik. Selain itu, ciri yang mungkin wujud untuk bakteria ini hidup di kawasan ekstrim seperti ini juga perlu diberi perhatian. Maka objektif kajian ini adalah untuk mengenal pasti bakteria yang ada di kolam air panas di Bentong, Pahang serta melihatkan akan ciri fizikal yang mampu menahan ia daripada termusnah di kolam air panas.

Di dalam uji kaji ini, medium kultur yang digunakan untuk pertumbuhan bakteria adalah agar soya trypticase (TSA-Merck) dan agar darah. Medium agar darah digunakan sebagai medium pertumbuhan dan untuk pengenalpastian bakteria. Koloni bakteria boleh dikenal pasti dan dibezakan apabila dikulturkan di atas agar darah. Medium agar TSA pula ialah medium yang diperkaya, yang sesuai dan umum digunakan untuk pemencilan bakteria persekitaran.

Selain dari medium pertumbuhan digunakan juga medium untuk ujian biokimia. Medium ini digunakan bertujuan untuk pengenalpastian mikroorganisma yang dipencilkan. Ia adalah seperti medium sitrat Simmons (Merck) untuk ujian sitrat, medium agar separa pepejal (Merck) untuk ujian motiliti, medium kaldu triptofan (Merck) untuk ujian Indol, medium kaldu urea (OXOID) untuk ujian urease, medium kaldu MRVP (Merck) untuk ujian Voges-Proskauer, medium kaldu TSA (Merck) dengan 7% natrium klorida untuk ujian pertumbuhan dan air pepton (Merck) untuk ujian fermentasi karbohidrat (glukosa, arabinosa, sukrosa, laktosa dan mannitol).

Selain daripada medium ini, beberapa ujian biokimia juga dilakukan untuk pengenalpastian mikroorganisma. Antara ujian-ujian ini termasuklah ujian fermentasi karbohidrat, ujian pertumbuhan dalam 7% natrium klorida (NaCl), katalase, sitrat, oksidase, indol, motiliti, urease dan Voges-Proskauer.

Kolam air panas Bentong terletak di kawasan pedalaman selatan negeri Pahang dan terletak jauh dari kawasan penempatan dan merupakan penampungan air buatan. Kolam ini mempunyai tiga kolam yang dijadikan kolam rekreasi yang bersambung antara satu sama lain dengan dipisahkan oleh tembok simen. Kesemua kolam ini terdedah kepada cahaya matahari. Ketiga-tiga kolam dicatat sebagai kolam A, B dan C yang mana suhunya serta pH adalah seperti di dalam Jadual 1.

JADUAL 1. Ciri fizikal kolam air panas Bentong, Pahang

Kolam	Suhu	pH
A	47-52°C	8.22-8.65
B	37-52°C	8.15-8.50
C	36-37°C	7.88-8.61

Ciri koloni serta bentuk fizikal bakteria yang dipencilkan telah dikenal pasti. Jadual 2 menunjukkan ciri bakteria dan bentuk koloninya.

JADUAL 2. Ciri bakteria yang dipencilkan daripada kolam air panas Bentong, Pahang

Bil. Gram	Ciri Koloni (pada TSA)	Ciri Mikroskop
1. Gram positif	Koloni kecil, berbentuk bulat dan berwarna putih krim.	kokus berantai, tidak berspora.
2. Gram Positif	Koloni kecil, bulat sedikit cembung, warna putih dan kelihatan lembap.	kokus berkelompok, tidak berspora.
3. Gram Negatif	Koloni kecil, berwarna putih dan sedikit cembung.	basilus, tidak berspora.
4. Gram Negatif	Koloni "pin poin" dan berwarna putih jernih.	basilus, tidak berspora.
5. Gram Negatif	Koloni "pin poin", berwarna putih krim, permukaan agak kasar	basilus, tidak berspora.

Sebagai kesimpulannya setelah ujian pengenalpastian dilakukan, dua spesies bakteria kokus Gram positif telah dikenal pasti sebagai *Streptococcus* sp. dan *Staphylococcus* sp. Kajian untuk mengenal pasti secara khusus identifikasi spesiesnya tidak dapat dilakukan kerana kaedah ujian yang dijalankan adalah sangat terbatas. Begitu juga dengan penemuan tiga spesies bakteria Gram negatif yang pada peringkat ini hanya dikenali sebagai sebagai X, XI and XII sahaja. Pengenalpastian lebih lanjut memerlukan kaedah biokimia yang lebih terperinci. Selain itu bakteria Gram positif dan negatif yang dipencilkan ini tidak menghasilkan endospora untuk melindunginya daripada suhu panas, sebaliknya mempunyai kaedah lain seperti kehadiran polisakarida untuk beradaptasi di dalam kolam tersebut (Oren 2010).

#### RUJUKAN

- Averhoff, B. & Müller, V. 2010. Exploring research frontiers in microbiology: recent advances in halophilic and thermophilic extremophile. *Res Microbiol.* 161(6): 506-14.
- Farkas, J., Chung, D., DeBarry, M., Adams, M.W. & Westpheling, J. 2011. Defining components of the chromosomal origin of replication of the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus* needed for construction of a stable replicating shuttle vector. *Appl. Environ. Microbiol.* 77(18): 6343-9.

Mahdavi, A., Sajedi, R.H., Asghari, S.M., Taghdir, M. & Rassa, M. 2011. An analysis of temperature adaptation in cold active, mesophilic and thermophilic *Bacillus*  $\alpha$ -amylases. *Int. J. Biol. Macromol.* 49(5): 1038-45.

Oren, A. 2010. Industrial and environmental applications of halophilic microorganisms. *Environ. Technol.* 31(8-9): 825-34.

Schiano Moriello, V., Lama, L., Poli, A., Gugliandolo, C., Maugeri, T.L., Gambacorta, A. & Nicolaus, B. 2003. Production of exopolysaccharides from a thermophilic microorganism isolated from a marine hot spring in flegrean areas. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 30(2): 95-101.

Abdul Hamid Abdul Aziz  
Nur Fariza Mat Reffin  
Mohamed Kamel Abd Ghani  
Hing Hiang Lian  
Ahmad Zorin Sahalan  
Program Sains Bioperubatan  
Pusat Pengajian Sains Diagnostik dan Kesihatan Gunaan  
Fakulti Sains Kesihatan  
Universiti Kebangsaan Malaysia  
Jalan Raja Muda Abdul Aziz  
50300 Kuala Lumpur, Malaysia

Pengarang untuk dihubungi: Mohamed Kamel Abd Ghani  
Alamat emel: mkamal@medic.ukm.my  
Tel: 60392897634 Faks: 60326929032

Diterima: April 2012  
Diterima untuk diterbitkan: Mei 2012

