

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia memiliki sumber daya panas bumi terbesar di dunia, yang terdapat pada 252 lokasi di 26 provinsi (Suherlan, 2010). Data Dinas Pertambangan dan Energi Provinsi Jawa Barat (2006) menyatakan, setidaknya terdapat 44 lokasi sumber daya panas bumi yang tersebar di 11 Kabupaten. Salah satu manifestasi panas bumi di Jawa Barat yaitu berupa mata air panas. Mata air panas ini dapat ditemukan dengan mudah di Kabupaten Garut dan telah menjadi objek pariwisata andalan di daerah tersebut.

Salah satu kajian biologis menarik yang dapat dilakukan pada mata air panas yaitu mengenai bakteri termofilik. Istilah termofilik digunakan pertama kali oleh Miquel pada tahun 1879, yaitu untuk mendeskripsikan organisme yang mampu hidup pada suhu tinggi (Morrison dan Tanner, 1921). Bakteri termofilik diketahui dapat tumbuh optimal pada rentang suhu 55 - 80°C (Lebedinsky, Chernyh, dan Bonch-Osmolovskaya, 2007). Suhu tinggi seperti itu umumnya bersifat fatal bagi organisme, namun bakteri termofilik masih mampu hidup bahkan tumbuh dengan optimal. Bakteri ini melakukan mekanisme termostabilitas melalui interaksi antara DNA dan protein serta efisiensi perbaikan DNA yang rusak dengan menggunakan enzim tertentu (Holden, 2009).

Bakteri termofilik yang berasal dari berbagai mata air panas di Indonesia hingga saat ini telah berhasil diisolasi, dikarakterisasi, dan diuji potensi enzimatis yang dimilikinya. Komponen seluler yang dimiliki oleh bakteri termofilik bersifat termostabil, salah satu diantaranya adalah enzim. Enzim yang bersifat termostabil sangat dibutuhkan oleh industri pertanian, makanan, detergent, hingga farmakologi. Enzim amilase, xylanase, selulase, kitinase, protease, lipase, dan DNA polimerase diketahui dapat dihasilkan oleh bakteri termofilik (Haki dan Rakshit, 2003). Studi mengenai enzim amilase yang berasal dari bakteri termofilik banyak menarik minat para peneliti karena pemanfaatannya yang sangat penting dalam berbagai bidang industri.

Amilase merupakan enzim yang dapat mengkatalis proses hidrolisis ikatan glikosidik yang terdapat pada amilum (Smith, 2000). Amilum terdiri dari dua macam polisakarida, yaitu amilosa dan amilopektin (Saunders, 2003). Enzim amilase yang berasal dari bakteri termofilik *Bacillus licheniformis* saat ini bahkan telah tersedia secara komersial dengan nama dagang *Termamyl* (Haki dan Rakshit, 2003). *Termamyl* dapat dimanfaatkan untuk memproduksi sirup glukosa. Studi mengenai bakteri termofilik amilolitik yang berasal dari mata air panas hingga saat ini belum banyak dilakukan, khususnya di daerah Jawa Barat.

Manifestasi panas bumi di Kabupaten Garut berupa mata air panas dapat ditemukan di daerah Ciengang dan Gunung Darajat. Mata air panas di kedua daerah tersebut selama ini hanya dimanfaatkan sebagai objek

pariwisata pemandiaan air panas saja. Mengingat manfaat amilase yang luas, maka diperlukan studi mengenai bakteri termofilik penghasil enzim tersebut. Studi ini belum pernah dilakukan di daerah Ciengang dan Gunung Darajat, padahal tidak menutup kemungkinan ditemukannya bakteri termofilik potensial penghasil enzim amilase.

Identifikasi bakteri merupakan langkah awal dari rangkaian studi eksplorasi dan pemanfaatan bakteri *indigenous* suatu daerah. Identifikasi dapat dilakukan secara konvensional melalui karakterisasi sifat biokimia dan mikroskopis sel bakteri, hingga berbasis molekuler. Metode identifikasi mikroorganisme patogen pada laboratorium klinis umumnya masih dilakukan secara konvensional, baik itu secara manual, otomatis, maupun semi-otomatis (Petti, Polage, dan Schreckenberger, 2005). Permasalahan pun timbul saat banyak ditemukannya kesalahan identifikasi bakteri secara konvensional (Moore *et al.*, 2005; Petti, Polage, dan Schreckenberger, 2005), oleh karena itu dibutuhkan metode molekuler yang relatif lebih cepat, efisien, dan akurat (Cook *et al.*, 2003). Identifikasi molekuler dengan menggunakan gen *16S rRNA* merupakan salah satu metode yang sering digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Hal dapat dilakukan karena gen ini memiliki urutan yang khas dan berbeda untuk setiap spesies bakteri, bersifat relatif konstan, serta memiliki laju mutasi yang kecil (Gonzales dan Sais-Jimenez, 2005; Janda dan Abbott, 2007). Penggunaan sekuen gen *16S rRNA* beserta analisis bioinformatika memungkinkan identifikasi isolat bakteri termofilik amilolitik

dapat dilakukan hingga tingkatan spesies, sekaligus menjadi suatu penguat (verifikasi) terhadap hasil identifikasi konvensional.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah, “Bagaimanakah karakterisasi dan identifikasi bakteri termofilik amilolitik dari mata air panas Ciengang dan Gunung Darajat, Garut dengan menggunakan metode fenotipik dan metode molekuler gen parsial *16S rRNA* ?”.

C. Pertanyaan Penelitian

Rumusan masalah yang telah dikemukakan sebelumnya dapat diuraikan menjadi pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah karakterisasi morfologi bakteri termofilik penghasil amilase yang diisolasi dari mata air panas di Ciengang dan Gunung Darajat, Garut ?
2. Bagaimanakah karakterisasi biokimiawi bakteri termofilik penghasil amilase yang diisolasi dari mata air panas di Ciengang dan Gunung Darajat, Garut ?
3. Berapakah nilai indeks amilolitik terbesar yang dimiliki isolat terpilih bakteri termofilik yang diisolasi dari mata air panas di Ciengang dan Gunung Darajat, Garut ?

4. Bagaimanakah hasil identifikasi isolat terpilih bakteri termofilik amilolitik dengan menggunakan metode fenotipik (*culture dependent*) maupun metode molekuler gen *16S rRNA* ?

D. Batasan Masalah

Permasalahan penelitian dibatasi agar tidak meluas dalam pelaksanaannya, yaitu sebagai berikut:

- a. Bakteri termofilik yang dimaksud dalam penelitian ini adalah isolat bakteri yang mampu hidup pada medium yang digunakan dalam penelitian, dalam keadaan aerob, di rentang suhu 45 - 80°C, serta menghasilkan enzim amilase.
- b. Identifikasi bakteri termofilik penghasil amilase yang dikaji dalam penelitian ini menggunakan metode fenotipik (*culture dependent*) dan metode molekuler gen *16S rRNA*.
- c. Nilai indeks amilolitik ditentukan dengan cara menentukan ukuran diameter zona halo (bening) dan diameter isolat bakteri termofilik terpilih. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan jangka sorong setelah proses inkubasi selama 24 jam pada suhu yang sama dengan rata-rata suhu air panas di lokasi pengambilan sampel.
- d. Identifikasi bakteri termofilik dengan menggunakan metode fenotipik dilakukan berdasarkan karakter morfologi dan biokimiawi yang dimilikinya, serta mengacu pada buku *Bergey's Manual Of Systematic Bacteriology* (Garrity, 1984). Identifikasi hanya dilakukan pada enam

isolat bakteri termofilik terpilih dengan nilai indeks amilolitik terbesar, dan dilakukan hingga tingkat taksa genus.

- e. Identifikasi bakteri termofilik berdasarkan hasil analisis gen *16S rRNA* menggunakan *forward* primer 63F dan *reverse* primer 1387R, serta dilakukan hingga tingkat taksa spesies.

E. Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah mengidentifikasi bakteri termofilik dari mata air panas di Ciengang dan Gunung Darajat, yang berpotensi menghasilkan enzim amilase dengan menggunakan metode fenotipik (*culture dependent*) dan metode molekuler gen *16S rRNA*.

F. Manfaat

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut :

- a. Dapat diperoleh informasi mengenai bakteri yang memiliki potensi menghasilkan enzim amilase (*bioprospecting amylase*).
- b. Dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut mengenai kajian produksi dan optimasi enzim amilase, maupun uji hayati mikroorganisme lainnya dengan menggunakan bakteri termofilik yang diisolasi dari mata air panas di Ciengang dan Gunung Darajat, Kabupaten Garut.