

# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang Penelitian

Tahu merupakan salah satu jenis olahan kedelai yang banyak dikonsumsi oleh masyarakat Asia, termasuk Indonesia dengan tingkat konsumsi mencapai 7.4 kg/orang/tahun (Dianursanti dkk., 2014). Mufarida & Abidin (2021), menyebutkan bahwa dalam setiap satu kilogram kedelai yang diolah menjadi tahu, akan menghasilkan 10 liter limbah cair dan 250 gram limbah padat. Nutrisi berlebih seperti nitrogen dan fosfor dalam limbah tahu dapat memicu eutrofikasi yang dapat menurunkan kadar oksigen terlarut di dalam air, menyebabkan kematian massal organisme akuatik dan penurunan kualitas air. Nitrogen dan fosfor yang terkandung dalam air limbah dapat dimanfaatkan sebagai nutrisi pertumbuhan dan mengatur aktivitas metabolisme bagi mikroalga, seperti *Chlorella* sp.

Air limbah menjadi sumber daya yang ketersediaannya melimpah, mudah diakses, biaya operasional yang rendah menjadikan pemanfaatan air limbah sebagai strategi yang efektif dalam mengurangi penggunaan bahan kimia dalam media sintesis dan biaya budidaya mikroalga (Ding dkk., 2015). Limbah yang dihasilkan dari pengolahan makanan tidak mengandung senyawa beracun dan zat berbahaya yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroalga (Tan dkk., 2014). Media pertumbuhan menjadi faktor penting yang secara langsung memengaruhi pertumbuhan, metabolisme, fisiologi, maupun genetik pada mikroalga. Media limbah tahu dipilih karena mengandung banyak nutrisi potensial, tetapi juga menimbulkan cekaman lingkungan karena kondisi lingkungan yang dinamis, sehingga dapat digunakan untuk menguji respon adaptif mikroalga dalam kondisi tekanan.

Mikroalga hijau seperti *Chlorella* sp. dapat tumbuh dalam air limbah dengan cepat dan menyerap senyawa yang mengandung karbon, nitrogen, fosfor, dan komponen lainnya dari lingkungan (Zhou dkk., 2014). *Chlorella* sp. sebagai mikroorganisme fotosintetik, tidak hanya mampu menghasilkan biomassa yang tinggi dalam waktu singkat, tetapi juga memiliki kapasitas untuk menyerap karbon dioksida, dan mendegradasi polutan organik dan anorganik dalam limbah cair

menjadikan *Chlorella* sp. sebagai mikroorganisme potensial untuk bio mitigasi gas rumah kaca dan fikoremediasi air limbah (Saini dkk., 2021). Spesies *Chlorella* sp. memiliki aplikasi potensial di berbagai industri dengan kandungan nutrisi seperti protein, lipid, karbohidrat, vitamin, klorofil, karotenoid, menjadikannya sumber pangan potensial dalam produksi pakan ternak, dan hewan akuatik, bahan baku produksi bahan bakar hayati melalui transesterifikasi (Liu dan Chen 2014; Ahmad dkk., 2018). Pigmen *Chlorella* sp. memiliki aktivitas antioksidan untuk melindungi sel-sel dari kerusakan oksidatif dengan mengoksidasi atau menetralkan berbagai *Reactive Oxygen Species* (ROS), anti-*senescence*, dan memperkuat sistem kekebalan tubuh (Gouveia dkk., 2006; Agustina dkk., 2021). Potensi *Chlorella* sp. yang baik menjadikan mikroalga ini sebagai mikroalga yang banyak diaplikasikan dalam penelitian.

Kemampuan setiap organisme untuk beradaptasi dapat dipengaruhi oleh adanya proses seleksi lingkungan yang memengaruhi variabilitas genetik yang ada dalam suatu populasi. Salah satu aspek penting untuk dapat memanfaatkan potensi mikroorganisme secara optimal yaitu dengan memahami keanekaragaman genetik dan karakteristik fenotipiknya. Karakteristik fenotipik dapat dianalisis berdasarkan pada karakterisasi biokimia, seperti kandungan protein, lipid, karbohidrat, dan pigmen fotosintetik (klorofil-a dan karotenoid), yang mendukung respons metabolik mikroalga terhadap lingkungan yang berubah, sedangkan keanekaragaman genetik dapat dianalisis menggunakan suatu penanda molekuler.

Keanekaragaman genetik berkaitan dengan kondisi adanya variasi dalam sekuen DNA atau RNA antar individu dalam suatu populasi atau spesies. Keragaman genetik yang dihasilkan melalui induksi dari perbedaan lingkungan tumbuh berpotensi untuk menghasilkan sifat-sifat genetik yang dapat meningkatkan kemampuan organisme untuk bertahan dan toleran terhadap cekaman, seperti perubahan lingkungan menguntungkan satu alel tertentu dan spesies dengan alel tersebut memiliki peluang lebih besar untuk bertahan hidup dan bereproduksi (Zizka dkk., 2020).

Terbentuknya keanekaragaman genetik yang tinggi memungkinkan populasi untuk tetap bertahan melalui mekanisme adaptasi yang lebih diikuti dengan perubahan dalam morfologi, fisiologi, maupun biokimia sebagai respons terhadap

tekanan tanpa memengaruhi susunan genetiknya (Dasgupta dkk., 2018). Tingkat kesamaan genetik yang tinggi kemungkinan besar terjadi di antara *Chlorella* sp. karena kondisi lingkungan yang serupa, dan penelitian ini dilakukan untuk menganalisis adanya variasi genetik, yang mengindikasikan bahwa spesies ini menunjukkan kemampuan toleransi berdasarkan dari pola pita polimorfisme yang dipertahankan dan terdeteksi dari proses analisis molekuler melalui PCR-RAPD.

Kombinasi penanda morfologi, fisiologi, dan molekuler dapat digunakan dalam analisis keanekaragaman genetik. Penanda molekuler menjadi suatu teknik informatif dan efektif untuk mendeteksi kemampuan adaptasi terhadap cekaman pada mikroalga (Idenyi & Nwokpuru, 2019). Lai dkk. (2019) telah meneliti respon fotosintesis dan mutasi DNA dari *Chlorella* sp. yang ditumbuhkan di lingkungan tropis, sedang, dan polar di bawah tekanan *ultraviolet rejection* (UVR) dalam jangka pendek yang menyebabkan terjadinya mutasi DNA, sehingga memengaruhi jalur metabolisme, pengalokasian ulang sumber daya karbon, dan penanggulangan kerusakan oksidatif pada *Chlorella* sp. yang diinduksi oleh sinar UV.

*Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) dipilih karena dapat digunakan untuk mengamplifikasi sekuens DNA menggunakan primer pendek secara acak, sehingga dapat digunakan untuk membandingkan pola pita DNA antar individu atau populasi, dan hanya dengan mengubah kombinasi oligomer yang digunakan dapat mengidentifikasi lokus dalam jumlah yang tidak terbatas (Marwal & Gaur, 2020). Dalam teknik RAPD jumlah DNA genom yang diperlukan sedikit yaitu berkisar 5-25 ng untuk setiap rantai PCR, perancangan primer tidak memerlukan informasi sekuens atau *probe* DNA, tingkat polimorfisme amplifikasi yang tinggi, dan penerapan teknik sederhana, sehingga memungkinkan mempersingkat waktu yang diperlukan dibandingkan dengan metode lain (Pandey dkk., 1996; Kodrostami & Rahimi, 2015). Penelitian Idenyi & Nwokpuru, (2019) mengenai biodiversitas *Chlorella* sp. dari lingkungan air tawar di Nigeria menunjukkan bahwa tingkat keragaman genetik atau polimorfisme *Chlorella* sp. tinggi berdasarkan hasil amplifikasi DNA menggunakan empat primer RAPD (OPB-1, OPB-11, OPH-07, OPH-08).

Penelitian mengenai analisis keanekaragaman genetik dengan penggunaan media kultur yang bervariasi pada *Chlorella* sp. penting dilakukan karena belum

terdapatnya data mengenai keanekaragaman genetik *Chlorella* sp. dalam media yang berbeda, terutama dalam media limbah dan keterkaitan terhadap karakteristik biokimia atau fisiologinya. Analisis keanekaragaman genetik mikroalga *Chlorella* sp. yang tumbuh dalam medium limbah juga penting untuk memahami kemampuan adaptasi dan efisiensi metabolisme mikroalga dalam mengasimilasi nutrisi dari media yang berbeda yang dapat memengaruhi laju pertumbuhan, hasil biomassa, dan potensial dalam menghasilkan bahan baku untuk produk bernilai tinggi. Analisis keragaman genetik memungkinkan identifikasi isolat *Chlorella* sp. yang memiliki karakteristik unggul, seperti pertumbuhan lebih cepat, produksi biomassa yang lebih tinggi, atau kandungan nutrisi yang lebih baik dalam media limbah tahu anaerobik, sehingga bisa dikembangkan lebih lanjut untuk aplikasi industri yang lebih efektif dan efisien.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan, maka rumusan masalah yang dapat digunakan yaitu “Bagaimana keanekaragaman genetik *Chlorella* sp. pada media limbah tahu dengan metode karakteristik biokimia dan RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*)?”

## 1.3 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan latar belakang maka pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimana hasil validasi identifikasi sel mikroalga penelitian?
2. Bagaimana biomassa *Chlorella* sp. yang ditumbuhkan dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%?
3. Bagaimana karakteristik biokimia *Chlorella* sp. yang ditumbuhkan dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%?
4. Bagaimana kuantitas dan kualitas hasil ekstraksi DNA *Chlorella* sp. yang ditumbuhkan dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%?
5. Bagaimana profil variasi genetik dan konsistensi dendrogram dalam merefleksikan hubungan genetik berdasarkan hasil karakteristik biokimia dan PCR-RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*) antara *Chlorella* sp. dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%?

#### 1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan utama penelitian yaitu untuk mengidentifikasi keanekaragaman genetik *Chlorella* sp. pada media limbah tahu dengan metode karakteristik biokimia dan PCR-RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*). Tujuan khusus penelitian, sebagai berikut:

1. Memvalidasi sel mikroalga penelitian.
2. Memperoleh informasi mengenai biomassa *Chlorella* sp. dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%.
3. Memperoleh informasi mengenai karakteristik biokimia *Chlorella* sp. yang ditumbuhkan dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%.
4. Memperoleh informasi mengenai kualitas dan kuantitas hasil ekstraksi DNA *Chlorella* sp. yang ditumbuhkan dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%.
5. Memperoleh informasi mengenai variasi genetik *Chlorella* sp. yang ditumbuhkan dalam media AF6 dan variasi komposisi media limbah tahu anaerobik 100%.

#### 1.5 Batasan Masalah

Dalam rangka mengarahkan penelitian dengan akurat dan mencapai hasil yang diharapkan dengan jelas, diperlukan penetapan batasan-batasan yang terinci. Batasan masalah penelitian, sebagai berikut:

1. Sampel mikroalga yang digunakan yaitu spesies *Chlorella* sp. yang sudah dilakukan optimasi kultivasi dalam dua kondisi lingkungan tumbuh yang berbeda tanpa ada induksi mutasi, yaitu media standar AF6 dan media limbah yang optimum bagi pertumbuhan *Chlorella* sp. koleksi dari BRIN-Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Kelompok Riset Mikroalga dan Rekayasa Bioproses.
2. Sampel *Chlorella* sp. untuk analisis biokimia berasal dari sampel *freeze dry*, sedangkan untuk analisis molekuler digunakan kultur cair, yang seluruh sampel sudah diketahui karakteristiknya berdasarkan laju pertumbuhan dan produktivitas hasil Magang Mandiri MBKM.
3. Sampel *Chlorella* sp. diambil dari populasi tertentu dan mungkin tidak mewakili variasi genetik *Chlorella* sp. secara keseluruhan dalam media.

4. Penelitian ini difokuskan pada analisis karakteristik biokimia yang meliputi kandungan protein, lipid, karbohidrat, klorofil-a, karotenoid, dan analisis keanekaragaman genetik *Chlorella* sp. yang telah ditumbuhkan pada media standar AF6 dan limbah tahu anaerobik 100% (LT OUT) sebagai media pertumbuhan *Chlorella* sp.
5. Analisis keanekaragaman genetik dilakukan menggunakan metode PCR-RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

### **1.6 Manfaat Penelitian**

Manfaat dari penelitian ini terletak pada kontribusi terhadap pemahaman lebih lanjut mengenai keanekaragaman genetik *Chlorella* sp., khususnya dalam konteks konsentrasi media limbah tahu yang berbeda. Hasil analisis *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD) diharapkan dapat memberikan informasi mendalam mengenai variasi genetik yang mungkin muncul dalam respons terhadap perubahan kondisi lingkungan. Dengan demikian, manfaat penelitian ini mencakup:

1. Memvalidasi bahwa media limbah dapat digunakan sebagai lingkungan tumbuh mikroalga yang mendukung pertumbuhan mikroalga.
2. Hasil penelitian dapat menjadi deteksi dini untuk mengidentifikasi mikroalga *Chlorella* sp. yang mampu bertahan dan beradaptasi dalam kondisi cekaman lingkungan melalui pola pita yang dihasilkan dari analisis molekuler.
3. Memberikan informasi mengenai pentingnya analisis variasi genetik dalam memahami respons mikroalga terhadap kondisi lingkungan tertentu.
4. Memberikan informasi mengenai potensi *Chlorella* sp. dalam mengatasi limbah organik seperti limbah tahu, untuk strategi pengelolaan limbah tahu yang lebih berkelanjutan dan ramah lingkungan.

### **1.7 Struktur Organisasi Skripsi**

Sistematika penulisan dalam skripsi ini tersusun atas lima bab yang setiap bab akan menguraikan topik yang diteliti, secara umum dapat ditinjau dalam penulisan struktur organisasi skripsi, sebagai berikut:

1. BAB I Pendahuluan

Bab I berisikan pemaparan terkait latar belakang penelitian, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, tujuan penelitian, batasan masalah, dan manfaat

penelitian. Penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi, memahami keanekaragaman genetik dan kemampuan adaptasi *Chlorella* sp. dalam media standar (AF6) dan variasi media limbah tahu 100%. Hal ini penting untuk memaksimalkan potensi *Chlorella* sp. sebagai fikoremediator dalam pengolahan limbah industri yang mengandung polutan organik dan anorganik, melalui analisis berdasarkan karakteristik biokimia dan teknik PCR-RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*).

## 2. BAB II Tinjauan Pustaka

Bab II berisikan pemaparan informasi, teori yang relevan dengan penelitian berdasarkan hasil studi literatur, mencakup mikroalga *Chlorella* sp., media pertumbuhan *Chlorella* sp. (media standar AF6 dan limbah tahu), protein, lipid, karbohidrat, pigmen fotosintetik, adaptasi, dan *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD).

## 3. BAB III Metode Penelitian

Bab III berisikan pemaparan metode penelitian yang digunakan, mencakup jenis penelitian, populasi dan sampel yang digunakan, waktu dan lokasi penelitian, prosedur penelitian (metode preservasi kultur *Chlorella* sp. untuk analisis kandungan biokimia dan molekuler, metode dalam analisis kandungan biokimia, ekstraksi DNA, dan metode dalam PCR-RAPD, analisis data, dan diagram alir penelitian.

## 4. BAB IV Hasil dan Pembahasan

Bab IV menyajikan temuan yang diperoleh berdasarkan dari hasil pengolahan data dan divalidasi dengan teori atau pembahasan dari literatur. Temuan penelitian mencakup karakteristik *Chlorella* sp. berdasarkan kandungan biokimia (protein, lipid karbohidrat, klorofil-a, karotenoid) dan profil keragaman atau variasi genetik yang diperoleh dari hasil amplifikasi DNA dengan PCR-RAPD, kemudian divisualisasikan melalui konstruksi dendrogram dengan UPGMA.

## 5. BAB V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi

Bab V menyajikan kesimpulan yang menanggapi pertanyaan penelitian, selain itu memuat juga implikasi penelitian, serta rekomendasi untuk penelitian selanjutnya.