

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Indonesia secara geologis terletak pada pertemuan tiga lempeng tektonik utama yaitu lempeng Eropa-Asia, India-Australia dan Pasifik yang berperan dalam proses pembentukan gunung api di Indonesia. Kepulauan Indonesia dibentuk dominan oleh busur vulkanik-magmatik, yang menjadikan Indonesia memiliki potensi panas bumi terbesar di dunia. Potensi ini terkait dengan kondisi geologi Indonesia yang merupakan daerah subduksi dan gunung berapi (Gupta, *et al.*, 2007). Sumber energi panas bumi di Indonesia tersebar hampir diseluruh wilayah Indonesia salah satu diantaranya adalah Jawa barat yang memiliki sumber daya alam panas bumi terbesar mencapai 20% dari total potensi yang dimiliki Indonesia. Sumber daya panas bumi dapat di temukan pada air dan batuan panas di dekat permukaan bumi sampai beberapa kilometer di bawah permukaan. Bahkan jauh lebih dalam lagi sampai pada sumber yang ekstrim dari batuan yang mencair atau magma (Nurwati, 2010).

Data Dinas Pertambangan dan Energi Provinsi Jawa Barat (2001), menyatakan daerah Gunung Darajat memiliki luas wilayah sebesar 14,13 KM<sup>2</sup>. Secara administratif berada pada dua wilayah kabupaten yaitu kabupaten Bandung (Kecamatan Pangalengan dan Kecamatan Kertasari) dan Kabupaten Garut (Kecamatan Tarogong, Kecamatan Bungbulang dan Kecamatan Cisewu). Daerah Ciengang garut termasuk kedalam Kecamatan Tarogong Kaler yang berbatasan dengan Kecamatan Leles, Samarang, Banyuresmi, dan Tarogong Kidul Luas kecamatan tersebut adalah 5.627 Ha dan berjarak sekitar 4 Km dari kota kabupaten Garut. Daerah ini terletak pada 500-1000 meter dari permukaan laut. Daerah tersebut menunjukkan karakteristik panas bumi berupa manifestasi sumber alam yaitu sumber mata air panas (*hot water Spring*) sebagai tempat ditemukannya mikroorganisme terutama bakteri termofil dari genus *Bacillus* (Utari, *et al.*, 2011).

Meli, 2014

*Isolasi DNA Genom Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Ciengang, Kawah Darajat dan Hydrothermal Vent Kawio*

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Selain sumber air panas, lingkungan laut juga dipandang memiliki keunikan karakteristik secara fisik, kimia, dan biologis (Steele *et al.*, 2005). Lingkungan laut dapat mencerminkan suatu kondisi yang memiliki tingkat keragaman mikroba yang cukup tinggi (Srimariana, 2000). Salah satu manifestasi lingkungan laut di Indonesia yaitu berupa kawasan perairan *hydrothermal vent* ditemukan dekat gunung berapi Kawio Barat, Sulawesi Utara. *Hydrothermal vent* ini merupakan kawasan kebulan asap gelap dari kegiatan vulkanik dapat menyemburkan air panas hingga mencapai suhu 400°C (Nganro, 2009). Pulau Kawio terbilang unik secara tektonik karena tidak banyak daerah di dunia yang mempunyai karakteristik seperti ini. Wilayah ini merupakan pertemuan dua jalur gunung api besar di dunia dan merupakan pertemuan jalur gempa wilayah timur dan pasifik. Selain itu juga, wilayah ini merupakan wilayah laut dalam yang belum banyak dieksplorasi potensinya (BPPT, 2010).

Beberapa kondisi lingkungan yang berbeda dalam setiap lokasi memungkinkan adanya heterogenitas bakteri termofilik yang tinggi (Adiguzel *et al.*, 2010). Habitat alami bakteri termofilik tersebar luas di seluruh permukaan bumi. Salah satu lingkungan alaminya terbentuk akibat aktivitas vulkanik atau perpindahan kerak bumi pada saat gempa tektonik. Fenomena geologi tersebut menghasilkan kawah air panas yang biasanya memiliki pH netral. Adanya aktivitas geothermal yang cukup besar pada daerah *hydrothermal vent* dan kawasan gunung berapi memungkinkan tumbuhnya mikroorganisme termofilik yang beragam. Bakteri termofilik juga dapat ditemukan di geotermal laut dalam yang memiliki kadar mineral dan salinitas yang tinggi (Edwards, 1990). Biodiversitas pada bakteri termofilik yang ditemukan pada berbagai sumber air panas dipengaruhi oleh perbedaan kondisi seperti pH, temperatur, ketersediaan air, cahaya dan oksigen, serta jenis dan jumlah nutrien dalam suatu habitat tersebut (Madigan *et al.*, 1998).

Hasil eksplorasi BPPT, (2010) mengungkap adanya kehidupan yang unik di kedalaman lebih dari 4.000 meter di bawah laut yaitu banyak mikroorganisme termofilik dan hipertermofilik yang hidup di laut dalam *hydrothermal vent* termasuk bakteri dan arkaea (Jeanthon, 2000). Eksplorasi terhadap bakteri-bakteri termofilik yang berasal dari kawasan ini masih sangat terbatas sehingga perlu

Meli, 2014

**Isolasi DNA Genom Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Ciengang, Kawah Darajat dan Hydrothermal Vent Kawio**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

adanya penelitian lebih lanjut agar potensi bakteri di kawasan *hydrothermal vent* ini dapat dimanfaatkan dengan baik.

Bakteri termofilik merupakan bakteri yang mampu tumbuh optimal pada rentang suhu 55–85°C (Andrade *et al.*, 1999). Bakteri termofilik mampu menghasilkan enzim termostabil. Kemampuan bakteri termofilik untuk hidup pada temperatur yang relatif tinggi dan juga mampu beradaptasi dalam lingkungan ekstrim merupakan sumber potensial untuk enzim termostabil yang lebih unggul perannya dalam bidang industri dan bidang bioteknologi (Kato *et al.*, 1995). Sifat termofilik yang terdapat dalam bakteri ini merupakan fenomena yang sangat unik, sehingga dilakukanlah penelitian mengenai bakteri termofilik terutama bakteri yang di isolasi dari sumber mata air panas, Garut dan kawasan *hydrothermal vent*, Kawio.

Menurut Brock and Madigan (1991), mikroba termofil memiliki beberapa keistimewaan di antaranya enzim dan protein yang dihasilkan bersifat termostabil dan mampu berfungsi optimal pada suhu tinggi. Enzim pada bakteri termofilik juga mampu mengkatalisis reaksi biokimia pada suhu tinggi dan umumnya lebih stabil dari bakteri mesofilik. Kemampuan bakteri termofilik untuk bertahan hidup di lingkungan panas disebabkan bakteri termofilik mempunyai membran sel yang kaya akan asam lemak jenuh dan membran ribosom yang juga tahan panas. Sifat-sifat tersebut sangat diperlukan oleh industri-industri berbasis enzim. Oleh karena itu, bakteri termofilik menawarkan keuntungan dalam bidang industri dan bioteknologi (Mayende, 2006).

Enzim termostabil dari bakteri termofilik cocok digunakan sebagai model untuk menentukan termostabilitas protein dan potensinya sebagai biokatalis dalam bioteknologi modern. Enzim yang terdapat pada bakteri termofilik juga dapat dimanfaatkan pada industri antara lain enzim amylase, selulase, xilanase, kitinase, protease, lipase dan DNA polimerase diketahui dapat dihasilkan oleh bakteri termofilik (Haki & Rakshit, 2003). Aplikasi lain dari enzim termofilik adalah pengembangan proses baru untuk mengurangi pelepasan bahan kimia berbahaya ke lingkungan dengan mengganti reaksi kimia yang ada dengan proses enzimatik, yang dikenal dengan bioremediasi (Andrade *et al.* 1999).

Meli, 2014

**Isolasi DNA Genom Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Ciengang, Kawah Darajat dan Hydrothermal Vent Kawio**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Salah satu pengembangan proses bioremediasi yang dilakukan oleh Restiawaty *et al.*, (2013) berhasil mengisolasi bakteri termofilik *Geobacillus sp.* dari perairan *hydrothermal vent* Kawio Sulawesi Utara Indonesia dengan suhu pertumbuhan optimum 60 °C dapat mengubah limbah gliserol menjadi bahan kimia lain yang memiliki nilai tambah. Tidak menutup kemungkinan dengan keanekaragaman bakteri yang ada pada bakteri termofilik dari sumber air panas Garut dan perairan *hydrothermal vent* Kawio akan menghasilkan lebih banyak lagi bakteri penghasil enzim-enzim termostabil baru yang fungsional seperti yang diharapkan adanya enzim termostabil dari polifosfat kinase (Restiawaty *et al.*, 2013). Memanfaatkan dan mempelajari potensi enzim termostabil bakteri termofilik, maka tahap awal yang perlu dilakukan yaitu dengan isolasi DNA.

Tahapan dalam melakukan isolasi DNA dibutuhkan nilai kepadatan sel atau *optical density* (OD) sekitar 0,6-2,0. Sehingga diperlukan upaya pengkulturan bakteri sampel di dalam medium pertumbuhan untuk meningkatkan nilai *optical density* (OD). Kepadatan sel atau *optical density* sel akan meningkat seiring dengan pertumbuhan sel bakteri, sehingga untuk mengetahui nilai *optical density* sel dapat dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer uv pada panjang gelombang 600 nm (Restiawaty, 2013). Keterbatasan sampel yang tersedia pada sumber air panas Kawio, maka dilakukan upaya pengkulturan bakteri untuk meningkatkan nilai *optical density* sel yang sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan medium kultur seperti suhu dan komposisi medium (Middelbeek *et al.*, 1992). Komposisi medium kultur yang mengandung komposisi garam-garam mineral sangat baik dan sesuai dengan habitat asli bakteri *hydrothermal vent* Kawio tersebut yaitu medium *Buhsnell Haas Mineral Salt* (BHMS). *Buhsnell Haas Mineral Salt* (BHMS) merupakan medium pertumbuhan bakteri yang berasal dari sampel air laut. Medium tersebut mengandung unsur makro nutrien dan mikro nutrien yang dapat berperan penting untuk pertumbuhan bakteri. Unsur makro nutrien dan mikro nutrien tersebut berasal dari komposisi mediumnya, yaitu  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , dan  $\text{FeCl}_3$  (Cappello *et al.*, 2012; Nunal, 2014). Selain itu, suhu inkubasi untuk pertumbuhan optimum bakteri termofilik yang di tumbuhkan pada medium BHMS yaitu 60°C (Restiawaty, 2013).

Meli, 2014

**Isolasi DNA Genom Bakteri Termofilik Sumber Air Panas Ciengang, Kawah Darajat dan Hydrothermal Vent Kawio**

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Asam deoksiribonukleat (DNA) merupakan asam nukleat yang mengandung materi genetik dan berfungsi untuk mengatur perkembangan biologis seluruh bentuk kehidupan secara seluler (Windiastika, 2011). DNA sangat menarik perhatian para biologawan modern dalam abad ini. Oleh karena itu DNA sangat erat hubungannya dengan hampir semua aktivitas biologi (Suryo, 2005). Selama bertahun-tahun eksplorasi enzim mikroba dari alam, termasuk dari laut, hanya didasarkan pada mikroorganisme yang dapat dibiakkan di laboratorium (*culturable microbes*) lebih dari 99% mikroba tidak bisa dikultur (*unculturable*) dengan metode konvensional, sehingga perlu adanya metode lain melalui pendekatan genomnya yaitu dengan metagenomik (Kennedy *et al.*, 2008; Sleator *et al.*, 2008).

Metagenomik adalah suatu metode isolasi DNA mikroba secara langsung dari lingkungannya yaitu dengan cara membuat perpustakaan gennya (*gene libraries*), diikuti dengan menganalisis informasi genetika yang terkandung didalamnya (Riesenfeld *et al.*, 2004). Metagenomik memberikan peluang besar dalam penemuan diversitas enzim yang baru karena kita dapat mengeksplorasi genom mikroba secara langsung dari lingkungan habitatnya (Uchiyama & Mizaki, 2009; Schmeisser *et al.*, 2007). Metagenomik ini merupakan salah satu cara eksplorasi enzim yang kini sedang dilakukan untuk mengungkap informasi genom baru yaitu menganalisis genom dengan cara mengisolasi DNA genom secara langsung dari lingkungan dalam rangka membangun pustaka metagenomik dari berbagai macam mikroorganisme yang ada dalam lingkungan tersebut (Handelsman, 2004).

Analisis metagenomik diawali dengan isolasi DNA dari sampel lingkungan. Kualitas analisis metagenomik berkaitan dengan kualitas DNA yang digunakan, dan beberapa prosedur ekstraksi yang telah dikembangkan untuk isolasi DNA dari lingkungan (Green & Keller, 2006). Kesulitan utama yang terkait dengan pendekatan metagenomik biasanya berhubungan dengan kontaminasi DNA. Pendekatan yang digunakan untuk ekstraksi DNA secara metagenomik biasanya serupa dengan pendekatan yang digunakan pada ekstraksi DNA dari kultur murni. Langkah dasar ekstraksi DNA dilakukan meliputi penghancuran, lisis sel, pemisahan DNA dari serpihan sel, dan pemurnian DNA (Meyer, 2006).

Isolasi DNA menggunakan metode CTAB (*Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide*) dengan sedikit modifikasi (Hidayat, *et al.*, 2012). CTAB merupakan sejenis deterjen yang dapat mendegradasi dinding sel, denaturasi protein, memisahkan karbohidrat (Kaidah & Suprpto, 2003). Metode isolasi DNA dengan menggunakan CTAB akan menghasilkan pita DNA yang berukuran tebal dan dapat memisahkan DNA dari polisakarida karena adanya perbedaan karakteristik kelarutan (*differential of solubility*). Disamping diperoleh fragmen DNA, dengan metode CTAB juga akan diperoleh RNA dengan pita tipis yang terletak jauh berada di bawah pita DNA. Keberadaan pita RNA tergantung bahan yang diekstraksi (Prasetyo, 2008). Untuk menguji DNA secara kualitatif dan kuantitatif, maka dapat dilakukan pengukuran dengan menggunakan spektrofotometri UV dan elektroforesis gel agarosa. Uji kualitatif dengan gel agarosa dapat mengukur kualitas kemurnian DNA, dimana konsentrasi gel agarosa yang digunakan berbanding terbalik dengan panjang/pendeknya pita DNA atau bentuk struktur DNA. Makin pendek urutan basa DNA-nya maka konsentrasi gelnya tinggi. Sedangkan uji kuantitatif DNA dengan menggunakan spektrofotometer UV pada panjang gelombang sinar UV 260 nm akan menangkap molekul DNA sehingga terukur nilai absorbansinya (Fatchiyah, 2011).

Menurut Sambrook dan Russel (2001) DNA murni (tanpa kontaminan) memiliki rentang nilai perbandingan panjang gelombang  $\lambda_{260}/\lambda_{280}$  antara 1,8-2,2, bila lebih kecil dari 1,8 diketahui DNA tersebut terkontaminasi fenol dan bila lebih besar dari 2,2 terkontaminasi protein. Oleh sebab itu, berdasarkan hasil uraian diatas maka dilakukanlah sebuah penelitian yang mengacu pada identifikasi hasil dari isolasi DNA dari berbagai sumber air panas yaitu sumber air panas Ciengang dan Kawah Darajat Garut, serta sumber air panas asal *Hydrothermal Vent Kawio*.

## B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

“Bagaimana hasil isolasi DNA genom bakteri sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat dan *hydrothermal vent*, Kawio?”. Berdasarkan rumusan masalah tersebut muncul beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah hasil pengujian suhu dan pH air sebagai faktor fisika lingkungan pertumbuhan bakteri asal sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan *Hydrothermal Vent* Kawio?
2. Bagaimanakah laju pertumbuhan spesifik bakteri sumber air *Hydrothermal Vent* Kawio pada medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) dan berapakah nilai *Optical Dencity* (OD) maksimal pada pertumbuhan bakteri termofilik tersebut?
3. Bagaimanakah hasil isolasi DNA genom bakteri termofilik asal sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan *Hydrothermal Vent* Kawio yang di uji secara kuantitatif dan kualitatif?

## C. Batasan Masalah

Agar permasalahan dalam penelitian ini terfokus pada hal yang diharapkan, ruang lingkup dibatasi pada:

1. Bakteri termofilik yang akan diisolasi DNA genomnya adalah bakteri yang mampu hidup pada medium BHMS, dalam keadaan aerob, dan pada suhu 60°C.
2. Sampel bakteri termofilik yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan dari kawasan *hydrothermal vent* kepulauan Kawio Provinsi Sulawesi Utara.
3. Metode Isolasi DNA yang digunakan adalah metode CTAB ( Hidayat, *et al.*, 2012).

#### **D. Tujuan Penelitian**

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil isolasi DNA genom bakteri sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan asal kawasan *hydrothermal vent*, Kawio yang dapat dirinci sebagai berikut:

1. Mengetahui hasil pengujian suhu dan pH air sebagai faktor fisika lingkungan pertumbuhan bakteri asal sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan *Hydrothermal Vent* Kawio.
2. Mengetahui laju pertumbuhan bakteri sumber air *Hydrothermal Vent* Kawio yang di *enrichment* pada medium *Bushnell Haas Mineral Salt* (BHMS) dan berapakah *Optical Density* (OD) maksimal pada pertumbuhan bakteri tersebut.
3. Mengetahui hasil identifikasi isolasi DNA genom bakteri termofilik yang di analisis secara kuantitatif dan kualitatif asal sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan *Hydrothermal Vent* Kawio.

#### **E. Manfaat Penelitian**

Adapun manfaat penelitian ini adalah sebagai sumber informasi tambahan mengenai hasil isolasi bakteri termofilik asal sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan asal kawasan *hydrothermal vent* Kawio yang di uji secara kuantitatif dan kualitatif, khususnya dibidang Mikrobiologi dan Biologi Molekuler. Selanjutnya DNA genom yang dihasilkan pada penelitian ini diharapkan dapat digunakan lebih lanjut untuk mengeksplorasi potensi keberadaan enzim-enzim termostabil dari bakteri termofilik sumber air panas Ciengang, Kawah Darajat Garut dan asal perairan *hydrothermal vent* Kawio secara molekuler yang dapat dimanfaatkan secara luas dalam industri berbasis enzim.