

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Selama beberapa dekade ini, manusia beranggapan laut dalam itu merupakan lingkungan yang tidak layak huni untuk berbagai jenis organisme. Hal ini disebabkan antara lain tidak terdapatnya cahaya matahari yang masuk dan kandungan oksigen yang sangat rendah (Rositasari, 1992). Namun, dalam beberapa tahun terakhir ini pendapat-pendapat tersebut mulai berubah setelah beberapa peneliti geologi pada tahun 1977 secara tidak sengaja menemukan keajaiban alam di kawasan *hydrothermal vent*, berupa oasis makhluk hidup pada kedalaman 2600 meter di bawah permukaan laut (Felbeck, 1981). Penemuan laut dalam *hydrothermal vent* di sepanjang Pasifik Timur itu telah secara signifikan mengubah pandangan terhadap laut dalam yang sudah lama dikenal dengan dingin, gelap, bertekanan tinggi dan lingkungan yang miskin hara (Corliss *et al.*, 1979).

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki laut dalam kawasan *hydrothermal vent* yang berlokasi di kepulauan Kawio provinsi Sulawesi Utara. Pulau Kawio telah dijadikan sebagai tempat ekspedisi karena terbilang unik secara tektonik dimana tidak banyak daerah di dunia yang mempunyai karakteristik seperti ini. Wilayah ini merupakan pertemuan dua jalur gunung api besar di dunia dan pertemuan jalur gempa wilayah timur dan pasifik. Selain itu juga wilayah ini merupakan wilayah laut dalam yang belum banyak dieksplorasi potensinya (BPPT, 2010). Eksplorasi ini berhasil mengungkap adanya kehidupan yang unik di kedalaman lebih dari 4.000 meter di bawah laut. Pada kedalaman 1.900 meter di bawah laut Sangihe telah diketahui keberadaan sebuah gunung api aktif setinggi 3.200 meter. Gunung api tersebut membentuk sebuah kawasan komunitas baru di areal geotermal. Banyak mikroorganisme termofilik dan hipertermofilik yang hidup di laut dalam *hydrothermal vent* termasuk bakteri dan arkaea (Jeanthon, 2000).

Bakteri termofilik selain banyak ditemukan di air panas daerah pegunungan, juga terdapat di lautan, tepatnya laut dalam kawasan *hydrothermal vent*. Beberapa kondisi lingkungan yang berbeda dalam setiap lokasi memungkinkan adanya heterogenitas bakteri termofilik yang tinggi. Hingga saat ini, lebih dari 70 genus dan 140 spesies termofil telah diisolasi dari berbagai lingkungan termis (George, 2001; Adiguzel *et al.*, 2010). Eksplorasi terhadap bakteri-bakteri termofilik yang berasal dari kawasan ini masih sangat terbatas sehingga perlu adanya penelitian lebih lanjut agar potensi bakteri di kawasan *hydrothermal vent* ini dapat dimanfaatkan dengan baik.

Penelitian mengenai bakteri termofilik saat ini cukup menarik untuk dilakukan. Sifat termofilik yang terdapat dalam bakteri ini merupakan fenomena yang unik karena kemampuannya untuk hidup pada temperatur yang relatif tinggi, juga kemampuan beradaptasinya dalam lingkungan ekstrim (Kato *et al.*, 1995). Pemanfaatan bakteri termofilik misalnya yaitu sebagai sumber enzim tahan panas. Mikroorganisme termofilik mampu mensintesis molekul stabil pada kondisi panas, termasuk molekul enzim. Faktor utama yang paling merusak enzim adalah suhu. Enzim dari mikroorganisme ini mendukung untuk bekerja di bawah kondisi normal dimana enzim dari mikroorganisme mesofilik akan mengalami denaturasi. Enzim tahan panas atau enzim termostabil banyak dieksplorasi dalam dasawarsa terakhir karena perannya yang sangat luas dan penting bagi pengembangan ilmu dasar maupun industri. Enzim termostabil memiliki beberapa keunggulan dibanding enzim termolabil karena penerapannya umumnya memiliki kestabilan yang lebih tinggi dan ketahanan yang cukup baik terhadap zat-zat kimia serta lebih mudah diisolasi. Hal ini berkaitan dengan keuntungan yang akan diperoleh bila proses produksi dilakukan pada suhu tinggi, diantaranya mengurangi kontaminasi, meningkatkan kecepatan transfer massa dan menurunkan viskositas dari larutan. Aplikasi pada bidang bioteknologi dan industri seperti dalam teknik-teknik biologi molekuler untuk kegunaan penelitian dan diagnostik (enzim yang memproses DNA dan RNA) dan kemampuan enzim mengubah tepung, makanan, pengelolaan sampah, sintesis organik, pembuatan kertas dan industri kulit. Dengan alasan inilah enzim ini menjadi sasaran termasuk kelayakannya sebagai

model untuk penelitian dan penyelidikan protein-protein yang bersifat termostabil dan kemampuannya sebagai biokatalis pada bioteknologi modern (Andrade C., 1999; Kamelia T., 2005; Madigan *et al.*, 2009; Suhartono M.T., 2000).

Untuk memanfaatkan dan mempelajari potensi enzim termostabil bakteri termofilik, tahap awal yang perlu dilakukan yaitu mengisolasi DNA genom. Asam deoksiribonukleat (DNA) merupakan persenyawaan kimia yang paling penting pada makhluk hidup, yang membawa keterangan genetik dari sel khususnya atau dari makhluk dalam keseluruhannya dari satu generasi ke generasi berikutnya. DNA sangat menarik perhatian para Biologawan modern dalam abad ini. Hal ini disebabkan karena DNA sangat erat hubungannya dengan hampir semua aktivitas biologi (Suryo, 2005). Genom adalah keseluruhan informasi genetik yang dimiliki suatu sel atau organisme, atau khususnya keseluruhan asam nukleat yang memuat informasi tersebut (Alberts *et al.*, 2002). Konstruksi pustaka genom dan pengklonan DNA membutuhkan DNA yang utuh agar fragmen DNA betul-betul berasal dari proses pemotongan enzimatik yang sangat spesifik. Bila terpotongnya DNA bukan karena reaksi enzimatik, maka fragmen DNA tersebut sulit disambungkan dengan DNA dari vektor pengklonan. Oleh sebab itu isolasi DNA genom yang utuh sangat diperlukan bila DNA tersebut akan diproses untuk pengklonan (Suharsono dan Widyastuti, 2006). Kemurnian dan kualitas DNA yang diperoleh dari tahap ini akan sangat menentukan dalam penelitian-penelitian biologi molekuler. Tiga langkah utama dalam isolasi DNA adalah perusakan dinding sel atau lisis, pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA. Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam proses isolasi DNA antara lain harus menghasilkan DNA tanpa adanya kontaminan seperti protein dan RNA, metodenya harus efektif dan bisa dilakukan untuk semua spesies, metode yang dilakukan tidak boleh mengubah struktur dan fungsi molekul DNA serta metodenya harus sederhana dan cepat (Surzycki, 2000).

Pengujian kuantitatif dan kualitatif isolat DNA dapat dilakukan dengan pengukuran menggunakan spektrofotometer UV dan elektroforesis gel agarosa. Pada uji kuantitatif DNA dengan menggunakan spektrofotometer UV pada

panjang gelombang sinar UV 260 nm akan menangkap molekul DNA sehingga terukur nilai arbsorbansinya. 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. Struktur DNA sirkuler lebih ringan dibanding DNA linier (Fatchiyah, 2011).

Informasi mengenai kinetika pertumbuhan dapat digunakan untuk menentukan waktu isolasi DNA genom. Pertumbuhan bakteri mengacu pada pertambahan total massa sel. Pertambahan massa bakteri berbanding lurus dengan pertambahan komponen seluler yang lain seperti DNA (*Deoxyribosa Nucleotida Acid*), RNA (*Ribosa Nucleotida Acid*) dan protein (Pelczar & Chan, 2005). Untuk mendapatkan waktu panen bakteri yang optimal, maka perlu diketahui kinetika pertumbuhan suatu bakteri. Pertumbuhan bakteri dapat diukur dengan melihat kenaikan biomassa atau jumlah sel. Pertumbuhan bakteri biasanya mengikuti suatu pola pertumbuhan tertentu berupa kurva pertumbuhan sigmoid. Studi mengenai kinetika pertumbuhan kultur bakteri dapat digunakan untuk menduga efisiensi biaya produksi dalam skala besar. Selain itu setiap bakteri akan menunjukkan perbedaan pola pertumbuhan, periode waktu yang dibutuhkan untuk tumbuh maupun beradaptasi, dan metabolit yang dihasilkan. Kinetika pertumbuhan dapat memberikan informasi tentang kecepatan produksi biomassa sel dan pengaruh lingkungan terhadap kecepatan pertumbuhan (Pramono *et al.*, 2003).

Untuk menumbuhkan dan mempelajari sifat-sifat suatu bakteri diperlukan suatu substansi yang sudah diatur komposisi nutrisinya, yaitu berupa medium. Laju pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh kondisi lingkungan medium pertumbuhan tersebut. Medium yang sesuai akan mengoptimalkan pertumbuhan bakteri. Semua bentuk kehidupan, mulai dari jasad renik (mikroorganisme) sampai manusia mempunyai persamaan dalam persyaratan nutrisi tertentu dalam bentuk zat-zat kimia yang diperlukan untuk pertumbuhan dan fungsinya yang normal (Lestari, 1998). Namun perlu diketahui jenis-jenis nutrisi yang disyaratkan oleh bakteri tersebut, selain lingkungan fisik yang menyediakan kondisi optimum bagi

pertumbuhannya. Berbagai macam jenis media tersedia dan dikenal untuk isolasi, identifikasi dan pemeliharaan bakteri (Cowan, 1975; Collin & Lyne, 1987), namun tidak semua media dapat mendorong pertumbuhan bakteri. Bakteri sangat beragam, baik dalam persyaratan nutrisinya maupun fisiknya, beberapa ada yang mempunyai persyaratan nutrisi yang sederhana adapula yang mempunyai persyaratan yang agak rumit.

Luria Bertani (LB) adalah medium cair yang paling umum digunakan untuk menumbuhkan berbagai jenis bakteri (Peanut, 2013). LB digunakan sebagai media pertumbuhan karena sangat efisien dalam merangsang pertumbuhan dan cocok untuk berbagai mikroorganisme. Resep pembuatan LB sering diubah atau dimodifikasi tergantung pada bakteri dan kondisinya. Menurut Restiawaty (2013), penambahan $MgSO_4$ pada media pertumbuhan dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri asal perairan *hydrothermal vent* Kawio. Oleh karena itu dalam penelitian ini digunakan LB dengan penambahan $MgSO_4$ sebagai medium pertumbuhan.

Berdasarkan uraian tersebut maka penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui kinetika pertumbuhan dan hasil isolasi genom bakteri konsorsium dari air laut dalam kawasan *hydrothermal vent* Kawio pada medium modifikasi LB.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, dapat dirumuskan masalah dari penelitian ini, yaitu: “Bagaimana kinetika pertumbuhan dan hasil isolasi genomik konsorsium bakteri asal perairan *hydrothermal vent* Kawio pada medium modifikasi LB?”

Dari rumusan masalah tersebut dapat dituliskan pertanyaan penelitian, yaitu:

1. Bagaimana kurva pertumbuhan konsorsium bakteri *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium modifikasi LB?
2. Berapakah nilai laju pertumbuhan spesifik dari konsorsium bakteri *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium modifikasi LB?
3. Bagaimana hasil isolasi DNA genom secara kuantitatif dan kualitatif dari konsorsium bakteri *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium modifikasi LB?

C. Batasan Masalah

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

1. Sampel bakteri yang diujikan dalam penelitian ini diambil dari laut dalam kawasan *hydrothermal vent* kepulauan Kawio provinsi Sulawesi Utara yang telah tersedia di PAU ITB.
2. Konsentrasi $MgSO_4$ yang ditambahkan dalam medium Luria Bertani yaitu sebanyak 0,5%.
3. Konsorsium bakteri yang diisolasi merupakan konsorsium bakteri termofilik yang bersifat aerob.

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kinetika laju pertumbuhan dan mengisolasi DNA genom konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio menggunakan medium modifikasi LB, yang dapat dirinci sebagai berikut:

1. Mengetahui kurva pertumbuhan konsorsium bakteri *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium modifikasi LB.
2. Mengetahui laju pertumbuhan spesifik dari konsorsium bakteri *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium modifikasi LB.
3. Mengetahui hasil isolasi genom konsorsium bakteri termofilik *hydrothermal vent* Kawio secara kuantitatif dan kualitatif yang ditumbuhkan pada medium modifikasi LB.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai pengaruh lingkungan dan kecepatan pertumbuhan konsorsium bakteri laut dalam *hydrothermal vent* Kawio pada medium modifikasi LB. Hasil isolasi genom yang didapatkan dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut seperti mengeksplorasi enzim-enzim potensial dan identifikasi bakteri yang berpotensi.