

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia adalah negara tropis yang dikelilingi oleh perairan dengan luas lebih dari 60% dari wilayah teritorialnya. Perairan Indonesia memiliki sumberdaya hayati laut dengan keanekaragaman yang tinggi (Srimariana, 2000). Lingkungan laut merupakan lingkungan yang memiliki keunikan karakteristik fisik, kimia, dan biologis (Steele *et al.*, 2005). Salah satu manifestasi lingkungan laut di Indonesia yaitu berupa kawasan perairan *hydrothermal vent*. *Hydrothermal vent* adalah kawasan kebulan asap gelap dari kegiatan vulkanik pada lingkungan laut dalam yang menyemburkan air panas hingga mencapai suhu 400 °C (Nganro, 2009). Salah satu *hydrothermal vent* di perairan laut Indonesia telah berhasil ditemukan dekat dengan gunung berapi bawah laut Kawio Barat, Sulawesi Utara (BPPT, 2010).

Salah satu kajian biologis menarik yang dapat dilakukan pada perairan *hydrothermal vent* Kawio, Sulawesi Utara ini yaitu mengenai keberadaan bakteri termofilik. Istilah termofilik digunakan pertama kali oleh Miquel pada tahun 1879, yaitu untuk mendeskripsikan organisme yang mampu hidup pada suhu tinggi (Morrison & Tanner, 1921). Suhu tinggi umumnya bersifat fatal bagi organisme, namun bakteri termofilik masih mampu hidup bahkan tumbuh dengan optimal. Bakteri termofilik diketahui dapat tumbuh optimal pada rentang suhu 55 – 80 °C (Andrade *et al.*, 1999).

Menurut Brock (1986), terdapat tiga faktor yang menyebabkan bakteri termofilik mampu bertahan dan berkembang dalam kondisi suhu tinggi, yaitu: (1) kandungan enzim dan protein yang lebih stabil serta tahan panas dibandingkan dengan bakteri mesofilik, (2) molekul pensintesis protein yang stabil terhadap panas, dan (3) membran lipid sel termofilik mengandung banyak asam lemak jenuh yang membentuk ikatan hidrofobik yang sangat kuat.

Bakteri termofilik mampu mensintesis molekul stabil, salah satunya adalah enzim termostabil yang mampu mengkatalis reaksi-reaksi biokimia pada suhu tinggi dan lebih stabil dibandingkan dengan enzim dari bakteri mesofilik. Enzim ini tidak hanya stabil terhadap suhu tinggi tetapi juga terhadap protein-protein denaturan, seperti detergen, pelarut organik, serta enzim protease (Andrade *et al.*, 1999). Sifat-sifat bakteri termofilik tersebut sangat diperlukan oleh industri-industri berbasis enzim. Oleh karena itu, bakteri termofilik menawarkan keuntungan yang lebih besar dalam bidang industri dan bioteknologi (Mayende, 2006). Enzim-enzim yang diketahui dapat dihasilkan oleh bakteri termofilik yaitu enzim amilase, xylanase, selulase, kitinase, protease, lipase, dan DNA polimerase (Haki & Rakshit, 2003).

Penelitian mengenai bakteri dari laut dalam kepulauan Kawio telah dilakukan oleh Agung & Moeis (2013), pada penelitian tersebut telah berhasil mengisolasi DNA metagenom dari sampel air dan sedimen laut-dalam perairan Kawio menggunakan teknik *Whole Genome Amplification* (WGA). Berdasarkan hasil analisis sekuensing yang dilakukan pada penelitian tersebut diperoleh kemiripan tertinggi dengan gen pengkode *replication protein* (Rep) dari bakteri *Pseudomonas putida*.

Kajian mengenai bakteri termofilik yang berasal dari kawasan *hydrothermal vent* Kawio sampai saat ini juga telah dilakukan oleh Restiawaty *et al.*, (2013), pada penelitian tersebut berhasil mengidentifikasi bakteri yang memiliki kemiripan dengan *Geobacillus sp.* dianalisis menggunakan gen *16S rRNA*. Dari hasil penelitian tersebut diketahui karakteristik pertumbuhan isolat bakteri termofilik dari kawasan *hydrothermal vent* Kawio memiliki suhu inkubasi optimum pada suhu 60°C. Isolat bakteri dari *hydrothermal vent* Kawio tersebut diketahui dapat tumbuh pada medium BHMS+gliserol sebagai sumber karbon untuk melakukan pertumbuhan biomassa sel dan memproduksi suatu produk fermentasi (Restiawaty *et al.*, 2013).

Bakteri yang terdapat di alam tidak hanya berada dalam bentuk tunggal tetapi campuran. Begitupula, bakteri yang terdapat di daerah ekstrim seperti perairan laut dalam kawasan *hydrothermal vent* Kawio yang memiliki suhu

tinggi. Bakteri yang terdapat pada lingkungan perairan laut dalam kawasan *hydrothermal vent* Kawio tidak hanya berada dalam bentuk tunggal tetapi campuran dari berbagai jenis bakteri. Istilah yang sering digunakan untuk campuran beberapa jenis bakteri disebut konsorsium bakteri (Komarawidjaja, 2009). Menurut Komarawidjaja (2009), penggunaan konsorsium bakteri cenderung memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penggunaan isolat tunggal. Kerja enzim-enzim dari konsorsium bakteri memungkinkan adanya kerjasama dalam penggunaan nutrisi yang tersedia di lingkungan sebagai pertahanan hidupnya (Okoh, 2006).

Untuk dapat melakukan kajian biologis pada konsorsium bakteri termofilik dari kawasan *hydrothermal vent* Kawio dapat dilakukan dengan mempelajari kinetika laju pertumbuhan dari konsorsium bakteri tersebut. Mempelajari kinetika laju pertumbuhan bertujuan untuk mengetahui sifat-sifat pertumbuhan bakteri pada medium pertumbuhan tertentu. Salah satu manfaat informasi kinetika pertumbuhan yaitu dapat digunakan untuk menentukan waktu untuk melakukan isolasi DNA genom. Pertumbuhan bakteri mengacu pada pertambahan total massa sel dan pertambahan massa sel bakteri berbanding lurus dengan pertambahan komponen seluler lain seperti DNA (*Deoxyribosa Nucleotida Acid*), RNA (*Ribosa Nucleotida Acid*) dan protein (Pelczar & Chan, 2005).

Pertumbuhan didefinisikan sebagai peningkatan secara teratur pada semua komponen-komponen kimiawi sel dan struktur sel. Kecepatan pertumbuhan untuk sistem uniseluler seperti pada bakteri didefinisikan sebagai peningkatan jumlah sel atau massa sel per satuan waktu (Middelbeek *et al.*, 1992). Sehingga dengan mengamati kinetika laju pertumbuhan sel pada konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio, dapat ditentukan waktu yang tepat untuk melakukan isolasi DNA genom (Restiawaty, 2013).

Isolasi DNA genom dari konsorsium bakteri merupakan langkah awal dari serangkaian studi eksplorasi dan pemanfaatan konsorsium bakteri termofilik secara biologi molekuler. Isolasi DNA genom sangat diperlukan untuk memperoleh gen-gen penyandi enzim yang diinginkan pada konsorsium

bakteri termofilik dari perairan *hydrothermal vent* Kawio. Genom merupakan keseluruhan informasi genetik yang ada pada sel, di dalam genom inilah terdapat gen-gen pengkode enzim yang dapat dieksploitasi manfaatnya (Gaffar, 2007). Sehingga tahapan isolasi DNA genom merupakan tahapan yang penting dilakukan untuk melakukan analisis karakter genetika selanjutnya (Tenruilo, 2001).

Pertumbuhan sel bakteri dipengaruhi oleh kondisi lingkungan medium tumbuh misalnya suhu dan komposisi medium (Middelbeek *et al.*, 1992). Komposisi medium kultur yang baik untuk pertumbuhan konsorsium bakteri perairan *hydrothermal vent* Kawio yaitu medium yang mengandung komposisi garam-garam mineral yang sesuai dengan habitat asli bakteri tersebut (Restiawaty, 2013).

Medium *Buhsnell Haas Mineral Salt* (BHMS) merupakan medium yang sering digunakan sebagai medium pertumbuhan bagi bakteri dari sampel air laut. Medium BHMS mengandung unsur makro nutrien dan mikro nutrien yang penting bagi pertumbuhan bakteri. Unsur makro nutrien dan mikro nutrien tersebut berasal dari komposisi mediumnya, yaitu KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , MgSO_4 , CaCl_2 , NH_4NO_3 , dan FeCl_3 (Cappello *et al.*, 2012; Nunal, 2014).

Medium lain yang biasa digunakan untuk pertumbuhan bakteri dari air laut yaitu medium Luria Bertani (LB) Broth. Medium LB mengandung komposisi trypton, NaCl, dan yeast extract yang kaya nutrisi bagi pertumbuhan bakteri. Kandungan garam yang ada pada medium LB diperoleh dari NaCl, namun perlu ditambahkan lagi variasinya, seperti dengan penambahan MgSO_4 . Penambahan MgSO_4 dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri *hydrothermal vent* Kawio (Restiawaty, 2013).

B. Rumusan Masalah

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

“Bagaimanakah kinetika laju pertumbuhan dan hasil isolasi DNA genomik konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio menggunakan medium campuran 25% BHMS + 75% LB?”

Berdasarkan rumusan masalah tersebut muncul beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah kurva pertumbuhan konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio menggunakan medium campuran 25% BHMS + 75% LB?
2. Berapakah nilai laju pertumbuhan spesifik konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio menggunakan medium campuran 25% BHMS + 75% LB?
3. Bagaimanakah hasil elektroforesis dari hasil isolasi DNA genom konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium campuran 25% BHMS + 75% LB?
4. Bagaimanakah nilai kemurnian dan konsentrasi DNA hasil isolasi DNA genom konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium campuran 25% BHMS + 75% LB?

C. Batasan Masalah

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

1. Konsorsium bakteri yang digunakan sebagai sampel merupakan sampel air yang berasal dari perairan *hydrothermal vent* Kawio, Sulawesi Utara Indonesia yang sudah tersedia di laboratorium rekayasa genetika PAU ITB.
2. Medium yang digunakan untuk mengamati kinetika laju pertumbuhan bakteri konsorsium dari perairan *hydrothermal vent* Kawio adalah medium campuran 25% BHMS + 75% LB.

Rizki Indah Permata Sari, 2014

KINETIKA LAJU PERTUMBUHAN DAN ISOLASI GENOMIK KONSORSIUM BAKTERI DARI HYDROTHERMAL VENT KAWIO MENGGUNAKAN MEDIUM CAMPURAN 25% BHMS + 75% LB

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

3. Konsorsium bakteri termofilik yang akan diisolasi DNA genomnya adalah bakteri yang mampu hidup pada medium campuran 25% BHMS + 75% LB, dalam keadaan aerob, dan pada suhu 60 °C.

D. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari kinetika laju pertumbuhan dan mengisolasi DNA genom konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio menggunakan medium campuran 25% BHMS + 75% LB, yang dapat dirinci sebagai berikut:

1. Mengetahui kurva pertumbuhan konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium campuran 25% BHMS + 75% LB.
2. Mengetahui laju pertumbuhan spesifik konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio menggunakan medium campuran 25% BHMS + 75% LB.
3. Mengetahui hasil elektroforesis, nilai kemurnian, dan konsentrasi DNA dari hasil isolasi DNA genom konsorsium bakteri dari perairan *hydrothermal vent* Kawio yang ditumbuhkan pada medium campuran 25% BHMS + 75% LB.

E. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai sumber informasi bagi peneliti selanjutnya yang berkaitan dengan pertumbuhan sel konsorsium bakteri termofilik dari perairan *hydrothermal vent* Kawio untuk mengetahui waktu yang tepat dilakukannya isolasi DNA genom. Selanjutnya DNA genom yang dihasilkan pada penelitian ini diharapkan dapat digunakan lebih lanjut untuk mengeksplorasi potensi keberadaan gen-gen penyandi enzim-enzim termostabil dari konsorsium bakteri termofilik pada perairan *hydrothermal vent* Kawio secara molekuler.