

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang memiliki energi panas bumi yang besar. Potensi panas bumi yang besar ini karena kepulauan Indonesia terbentuk dominan oleh busur vulkanik-magmatik. Potensi ini terkait dengan kondisi geologi Indonesia yang merupakan daerah subdiduksi dan gunung berapi dimana secara geologis Indonesia terletak pada pertemuan tiga lempeng tektonik utama yaitu lempeng India-Australia, Eropa-Asia, dan Pasifik yang berperan dalam proses pembentukan gunung api di Indonesia (Gupta *et al.*, 2007)

Hasil pencarian pertama kali sumber panas bumi di Indonesia berada di daerah Kamojang yang dilakukan pada tahun 1918 (Saptadji, 2009). Hingga tahun 2009 telah diperoleh 265 lokasi sumber energi panas bumi yang tersebar di sepanjang jalur vulkanik yang membentang dari Pulau Sumatera, Jawa, Bali, Nusa Tenggara, Maluku, dan Sulawesi serta daerah-daerah non-vulkanik seperti Kalimantan dan Papua. Total potensi energi panas bumi yang dimiliki Indonesia sekitar 28.112 MWe atau setara dengan 12 miliar barel minyak bumi. Total potensi sebanyak ini menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara yang memiliki potensi panas bumi terbesar (Kasbani, 2009).

Jawa Barat adalah salah satu daerah terbesar di Indonesia dengan potensi panas bumi yang sangat besar. Menurut badan ESDM urutan panas bumi ke dua terbesar di Jawa Barat setelah Gunung Salak yang dikelola oleh Chevron adalah daerah Wayang Windu, Pangalengan yang dikelola oleh *Star Energy* (ESDM, 2011). Sumber panas Gunung Wayang-Windu terletak 40 km sebelah selatan dari Bandung, Jawa Barat. Area sumber panas ini memiliki luas sekitar 12.960 hektar yang dikelola oleh *Star Energy* yang bekerjasama dengan Pertamina (StarEnergy, 2012). Pada segi pemanfaatannya, tenaga panas bumi yang terdapat di daerah Wayang-Windu sudah tidak diragukan lagi. Selain energi, menurut Madigan *et al.* (2009) sumber panas bumi juga memiliki keanekaragaman mikroorganisme termofilik salah satunya adalah *Archaeobacteria* yang belum di eksplorasi secara maksimal.

Panas bumi merupakan habitat potensial bagi bakteri termofilik. Bakteri termofilik banyak terdapat pada tempat-tempat yang mempunyai kondisi lingkungan panas, bakteri ini dapat hidup dan berkembang biak pada lingkungan yang ekstrim. Beberapa habitat ekstrim bagi bakteri termofilik diantaranya adalah sumber air panas, kawah gunung berapi, dan celah hidrotermal kedalaman air laut (Kathleen, 2005) dan sebagian besar bakteri termofilik terdapat di sumber air panas (Madigan *et al.*, 2009). Bakteri termofilik merupakan bakteri yang tumbuh optimum pada suhu diatas bakteri mesofilik (Bergey, 1919). Bakteri termofilik sejati memiliki rentang suhu optimum 55 °C hingga 60 °C (Gaughran, 1947) dan mulai tumbuh pada suhu 45°C (Madigan *et al.*, 2009). Prescott *et al.* (2005) menyatakan hal yang sama dengan Madigan *et al.* (2009) bahwa bakteri tumbuh pada rentang suhu 45 °C hingga suhu 65 °C (Prescott *et al.*, 2005). Beberapa bakteri termofilik yang telah berhasil diisolasi di Indonesia pada sumber air panas di antaranya adalah *Thermus*, *Acetogenium*, *Bacillus*, *Thermotrix*, *Thermodesulfobacterium*, *Thermomicrobium*, *Sulfobacillus* di Pacet (Asnawi, 2006). Isolasi untuk mendapatkan bakteri termofilik juga dilakukan pada sumber air panas Sipoholon, Sumatera Utara dan diperoleh 16 isolat bakteri proteolitik termofil (Pakpahan, 2009).

Bakteri termofilik memiliki peranan penting dalam bioteknologi sebab bakteri ini memiliki enzim termostabil atau enzim yang tetap stabil dan bekerja secara optimum pada kondisi panas (Madigan *et al.*, 2009). Kemampuan inilah yang menyebabkan enzim termostabil pada bakteri termofilik lebih unggul perannya dalam bidang industri dan bioteknologi. Kemampuan enzim termofilik ini telah menarik banyak industri untuk menggunakannya sebagai biokatalis dalam bidang industri. Enzim termostabil juga memiliki keuntungan yaitu mengurangi kontaminan selama reaksi, mempercepat reaksi, dan mengurangi biaya produksi (Risnayanti dan Akhmaloka, 2011). Hal ini menyebabkan banyak peneliti yang masih mengkaji bakteri termofilik karena karakteristiknya yang stabil pada suhu yang tinggi.

Eksplorasi mikroorganisme sudah cukup lama hanya didasarkan pada yang dapat dibiakkan di laboratorium atau biasa disebut *culturable microbes* (Arnold, 2001). Eksplorasi terhadap bakteri tersebut secara umum dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri tersebut pada media sintetik. Namun pada kenyatannya masih cukup sulit menumbuhkan bakteri dengan cara itu, karena seringkali media yang diberikan tidak sesuai dengan kondisi media pertumbuhan bakteri atau komposisi alamiah pertumbuhannya. Kondisi ini juga dipicu oleh sangat terbatasnya informasi mengenai komunitas strain bakteri yang hidup pada sumber-sumber alam tersebut (Aminin *et al.*, 2009). Sebagian besar mikroorganisme yang berada di lingkungan, hanya sekitar 1% dari mikroorganisme termasuk bakteri yang dapat ditumbuhkan pada kultur murni dan sekitar 99% tidak dapat ditumbuhkan pada kultur murni (Amann *et al.*, 1995). Kondisi ini menyebabkan terobosan-terobosan baru dalam bidang bioteknologi yang telah mendorong lahirnya suatu pendekatan baru untuk mengakses potensi molekuler *unculturable microbes* atau mengambil informasi genetik dari mikroorganisme tanpa pengkulturan tapi langsung dari lingkungan sehingga diperoleh metagenom. Metagenom adalah seluruh DNA dari suatu ekosistem secara lengkap (bukan hanya dari satu organisme saja), misalnya segenggam tanah, sepuluh mili liter air laut, atau isi perut manusia (Shelswell, 2004).

Metagenom dikaji dan dikembangkan menjadi sebuah ilmu yang disebut metagenomika. Metagenomik (*metagenomics*) dapat mengeksplorasi berbagai produk berharga (enzim, vitamin, metabolit sekunder) dari mikroba termasuk bakteri tanpa perlu mengkulturkannya. Secara umum metagenomik didasarkan pada dua hal yaitu deteksi produk ekspresi dari gen target seperti enzim dan mendeteksi gen target secara *in situ* (Uria *et al.*, 2005). Mendapatkan metagenom merupakan tahapan awal dalam menjelajahi beragam mikroba yang kompleks dan sebagai cabang genetika yang secara khusus ditunjukkan untuk mengumpulkan gen-gen langsung dari suatu lingkungan, diikuti dengan menganalisis informasi genetika yang terkandung di dalamnya tanpa melakukan pengkulturan terlebih dahulu (Riesenfeld *et al.*, 2004).

Cara untuk mendapatkan metagenom dari lingkungan adalah isolasi DNA tanpa pengkulturan. Salah satu metode isolasi DNA metagenom ini adalah metode *Cetyl trimethyl ammonium bromide* (CTAB). Metode isolasi CTAB merupakan metode isolasi menggunakan *buffer* CTAB sebagai *buffer* lisis yang berperan memecah membran untuk mengeluarkan DNA genom (Mulyani *et al.*, 2012). Metode ini tidak membutuhkan biaya yang lebih mahal dibandingkan dengan menggunakan kit (Ningrum, 2008). Keberhasilan isolasi DNA yang telah dilakukan dapat dilihat secara kualitatif dan kuantitatif. Secara kualitatif yaitu kualitas dari bentuk dan ukuran pita yang dihasilkan, ukuran pita yang tebal dan utuh merupakan kualitas DNA yang bagus. Secara kuantitatif ditentukan dari tingkat kemurnian yang diperoleh, tingkat kemurnian DNA yang tanpa kontaminan adalah 1,8. Jika kurang atau lebih merupakan indikator bahwa DNA masih terkontaminasi (Fatchiyah, 2011).

Kelebihan dari metode CTAB ini adalah pita DNA yang diperoleh lebih tebal bila dibandingkan dengan ekstraksi fenol dan tanpa fenol (Ningrum, 2008). Selain diperoleh fragmen DNA yang tebal, dengan metode CTAB juga akan diperoleh RNA dengan pita tipis yang terletak jauh dibawah pita DNA. Keberadaan pita RNA tergantung bahan yang diekstraksi (Prasetyo, 2008).

Metode CTAB dikembangkan oleh Murray dan Thompson pada tahun 1980. Awalnya metode ini digunakan untuk ekstraksi dan pemurnian DNA dari tanaman dan sangat tepat untuk memurnikan polisakarida dan senyawa polifenol yang berpengaruh pada kemurnian dan kualitas DNA (Somma, 2010). Efektivitas CTAB dalam menghilangkan polisakarida, membuat CTAB banyak digunakan untuk purifikasi DNA pada sel yang mengandung banyak polisakarida seperti pada sel tanaman dan bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas*, *Agrobacterium* dan *Rhizobium* (Laberge, 2008).

Isolasi CTAB ini juga telah banyak dilakukan oleh para peneliti seperti yang dilakukan oleh Ardiana (2009) pada daun pepaya dan daun jeruk dengan menggunakan modifikasi *buffer* CTAB. Hasil isolasi DNA dengan metode CTAB yang diperoleh dengan menggunakan *buffer* CTAB yang ditambahkan 0,2 β -mercaptoethanol dan PVP mampu menghasilkan pita DNA yang tebal

dan bersih dibandingkan dengan yang ditambahkan nitrogen cair (Ardiana, 2009).

Meskipun isolasi DNA dengan metode CTAB banyak diaplikasikan pada tumbuhan namun metode ini juga dapat diaplikasikan untuk mengisolasi DNA mikroorganisme dari perairan dengan suhu normal seperti yang dilakukan Hidayat *et al* pada tahun 2012. Hasil yang diperoleh dari penelitian tersebut didapatkan pita RNA dengan hasil yang baik sehingga menghasilkan tabel filogenetik dari mikroorganisme yang diperolehnya dalam penelitiannya terhadap sampel air di Johor, Malaysia (Hidayat *et al*, 2012). Oleh karena itu, berdasarkan hasil uraian diatas maka dilakukan sebuah penelitian mengenai isolasi DNA metagenom bakteri dari sumber air panas Gunung Wayang Windu Pangalengan dengan menggunakan metode isolasi CTAB.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka diperoleh rumusan masalah yaitu “Bagaimanakah hasil isolasi DNA metagenom bakteri termofilik di sumber air panas Gunung Wayang Windu, Pangalengan secara kuantitatif dan secara kualitatif dengan menggunakan metode CTAB Marshall *et al.*, (dalam Hidayat *et al*, 2012) dengan sedikit modifikasi?”.

C. Tujuan

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah mempelajari hasil isolasi DNA metagenom bakteri termofilik dari sumber air panas Gunung Wayang Windu Pangalengan, Bandung dengan menggunakan metode CTAB Marshall *et al.*, (dalam Hidayat *et al*, 2012) dengan sedikit modifikasi.

Tujuan umum dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan suhu air pada titik pengambilan sampel di sumber air panas Wayang Windu, Pangalengan sebagai indikator utama keberadaan dan pertumbuhan dari bakteri termofilik.
2. Memperoleh hasil penyaringan bakteri dari sampel air panas Gunung Wayang Windu, Pangalengan dengan menggunakan mikrofiber 0,2 μm .

3. Mendapatkan hasil isolasi DNA metagenom bakteri termofilik di sumber air panas Gunung Wayang Windu, Pangalengan secara kuantitatif dan kualitatif dengan menggunakan metode CTAB Marshall *et al.*, (dalam Hidayat *et al.*, 2012).

D. Batasan Masalah

Dalam memfokuskan penelitian ini, maka dibuat beberapa batasan masalah sebagai berikut;

1. Bakteri yang diisolasi adalah bakteri termofilik yang hidup di suhu 55⁰C di daerah sumber air panas Gunung Wayang Pangalengan, Bandung.
2. Kertas yang digunakan untuk penyaringan adalah kertas saring mikrofiber ukuran 0,2 µm.
3. Metode isolasi yang digunakan adalah metode CTAB Marshall *et al.*, (dalam Hidayat *et al.*, 2012) dengan sedikit modifikasi.

E. Manfaat Penelitian

Dari penelitian yang dilakukan ini diharapkan memiliki manfaat khususnya bagi peneliti dan umumnya bagi para masyarakat yang membacanya. Adapun beberapa manfaat tersebut, yaitu;

1. Memberikan informasi ilmiah mengenai isolasi metagenom bakteri dengan menggunakan metode CTAB.
2. Menjadi sumber bahan rujukan bagi penelitian selanjutnya dengan topik yang sama.
3. Menjadi penelitian awal untuk mendapatkan gen-gen yang diinginkan dari bakteri tanpa pengkulturan.