

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Organisme laut merupakan sumber kandungan senyawa bioaktif baru yang banyak menjadi perhatian sekarang ini. Bentuk pertumbuhan bakteri pada perairan laut yang miskin nutrisi, banyak dijumpai dengan cara hidup berasosiasi dengan berbagai organisme laut, seperti spons dan karang. Spons merupakan biota laut yang tersebar pada daerah perairan pantai yang dangkal hingga kedalaman 5,5 km. Spons adalah hewan berpori yang termasuk *filter feeder* yaitu hewan yang memiliki cara makan dengan menyaring air laut yang mengandung makanan melalui pori-pori (ostium) yang disebut *porifera*. Makanan *porifera* berupa mikroorganisme atau sisa organisme yang telah mati yang berada di kolom air (Abubakar *dkk.*, 2011).

Organisme laut yang mempunyai kandungan kimia terbanyak dihasilkan oleh invertebrata laut disusul kemudian oleh tumbuhan laut. Kelompok yang termasuk invertebrata laut antara lain: Spons laut (Filum *Porifera*), Hewan lumut (Filum *Bryozoa*), *Soft Coral* (Filum *Cnidaria*) dan hewan bermantel (Filum *Tunicata*) (Brauers *dkk.*, 2000). Spons laut diketahui memproduksi senyawa metabolit sekunder yang aktif secara biologis. Spons laut juga dilaporkan menjadi tempat hidup beberapa jenis bakteri jumlahnya mencapai 40% dari biomassa spons itu sendiri (Kanagasabhapathy *dkk.*, 2005).

Spons sebagai penghasil senyawa bioaktif terbesar antara invertebrata laut lainnya, memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan. Melaporkan dalam dekade terakhir ini senyawa bioaktif yang ditemukan pada invertebrata laut berasal dari spons. Antibakteri, antifungal, antitumor dan antivirus adalah beberapa potensi yang telah ditemukan dan dikembangkan dari spons (Ginting *dkk.*, 2010).

Resistensi bakteri patogen terhadap antibiotik-antibiotik yang ditemukan telah menjadi masalah besar bagi kesehatan. Pencarian suatu antibakteri sangat perlu dilakukan untuk menghambat dan membunuh bakteri-bakteri patogen.

Untuk menemukan antibakteri yang mampu menghambat dan membunuh bakteri patogen maka perlu diadakan suatu penelitian tentang pencarian bahan bioaktif yang baru. Potensi antibiotik tersebut telah banyak diketahui terdapat pada sumber daya laut. Banyak peneliti yang mencurahkan perhatiannya pada laut karena selain sebagai sumber pangan, laut juga sebagai sumber obat-obatan. Sumber daya laut yang mempunyai potensi terhadap bahan-bahan aktif antimikroba diantaranya spons, karang lunak, alga merah dan lain-lain. Baru ini spons dan karang lunak banyak menjadi perhatian para peneliti produk alam karena terbukti mengandung senyawa-senyawa aktif (Tinambunan dan Isnaini., 2012).

Kemampuan spons dalam menghasilkan senyawa bioaktif dikarenakan hubungan simbiotik dengan mikroorganisme dalam hal ini bakteri. Hubungan ini mencakup penyediaan nutrisi dengan membantu translokasi metabolisme termasuk nitrifikasi, fiksasi nitrogen, fotosintesis dan membantu pertahanan kimiawi serta berperan dalam biofouling. Karena peranan ini maka bakteri yang bersimbiosis dengan spons diduga memiliki potensi yang besar dalam menghasilkan senyawa-senyawa bioaktif yang selama ini diisolasi dari spons. Mikroba yang terdapat pada spons sangat beragam dan tujuh filum telah berhasil diisolasi dari spons (Ginting *dkk.*, 2010)

Produk alami laut sebagai hasil metabolik sekunder kemungkinan dihasilkan oleh kehadiran mikroorganisme pada jaringan spons sebagai simbion, baik simbion intraselluler ataupun ekstraselluler. Senyawa-senyawa organik tersebut dapat ditransport karena adanya kerjasama antara simbion dan inangnya. Kehadiran kedua pasangan simbion ini juga menjadi syarat untuk menghasilkan metabolik sekunder seperti senyawa bioaktif yang bersifat antimikroba. Yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri (endosimbion dan ektosimbion) penghasil senyawa antimikroba dan menganalisis keragaman genetiknya berdasarkan amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) dan sekuensing gen *16S rRNA*. Metode untuk mengisolasi bakteri simbion yang diduga memiliki potensi antimikroba dibagi atas dua metode yaitu untuk mengisolasi bakteri. Total jumlah bakteri hasil isolasi diuji berdasarkan kemampuan antimikrobanya dengan menggunakan bakteri target *Escherichia coli*,

EPEC K-11, *Vibrio harveyi*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* dan dua jenis khamir yaitu *Candida albicans* dan *Candida tropicalis*. Bakteri yang memiliki aktivitas antimikroba dianalisis keragamannya dengan Amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) serta identifikasi dengan pewarnaan Gram dan sekuensing gen 16S rRNA (Abubakar, 2009).

Meningkatnya penyakit vibriosis pada udang menyebabkan perlunya dilakukan eksplorasi senyawa baru yang mempunyai aktifitas antibakteri. Salah satu sumber antibakteri adalah bakteri yang hidup bersimbiosis dengan organisme lain seperti spons. Dapat melakukan penapisan bakteri yang berpotensi sebagai antibakteri terhadap bakteri patogen udang. Contoh spons diperoleh dari sibolga, Sumatera Utara. Berdasarkan hasil uji antibakteri tersebut diketahui bahwa 6 (31%) isolat yang berpotensi sebagai antibakteri menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri patogen uji (Siregar, 2016)

Bakteri simbiosis pada spons mampu memproduksi senyawa bioaktif dan menggantikan spons yang selama ini menghasilkan senyawa bioaktif. Bakteri mampu memproduksi secara cepat kandungan biomassa sehingga senyawa bioaktif bisa diproduksi dengan lebih mudah, cepat dan banyak dalam skala bioteknologi dari pada mengkultur spons itu sendiri. (Imhoff dan Schonheit., 2006).

Bioaktivitas senyawa hasil isolasi meliputi antivirus, antitumor, antimikroba sehingga menarik untuk dikembangkan. Bioaktif sangat menjanjikan untuk digunakan dalam bidang bioteknologi dan obat – obatan. Namun dengan menggunakan teknik *cultur-independent* diketahui setidaknya terdapat 16 filum yang ada pada spons. Menurut Hentschel (2003) bakteri yang diisolasi dapat menghasilkan metabolit sekunder dari spons banyak memfokuskan pada genus yang dikenal sebagai produsen metabolit sekunder khususnya kelompok *Actinobacteria*. Spons merupakan penampung mikroba laut dan mencapai 60% dari total biomassa spons. Mikroba simbiosis ini menghasilkan senyawa aktif sebagai respon terhadap kondisi ekstrim lingkungannya melalui mekanisme pertahanan tubuhnya. Spons dapat berasosiasi dengan sejumlah besar mikroorganisme berbeda seperti *cyanobacteria* bakteri heterotrofik dan alga

uniseluler. Spons laut memiliki sumber yang kaya akan mikroorganisme baru dengan potensi aktivitas farmakologi. Interaksi antara spons dan bakteri terjadi dalam bentuk simbiosis komensalisme yang menghasilkan senyawa bioaktif. Metabolit mikroba yang berasosiasi dengan invertebrata laut memiliki kemiripan struktur dengan metabolit yang dihasilkan oleh inangnya (Reha *dkk.*, 2013).

Untuk mengidentifikasi mikroba simbiosis spons ini dilakukan dengan analisis filogenetik. Filogenetik molekuler adalah cabang dari filogeni yang menganalisis perbedaan molekul turun-temurun, terutama di urutan DNA, untuk mendapatkan informasi tentang hubungan evolusi organisme. Hasil analisis filogenetik molekuler dinyatakan dalam pohon filogenetik. Filogenetik molekuler merupakan salah satu aspek sistematika molekuler, istilah yang lebih luas yang juga mencakup penggunaan data molekuler dalam taksonomi dan biogeografi.

Langkah pertama yang dilakukan untuk melakukan analisis filogenetik adalah dengan melakukan ekstraksi DNA. Ekstraksi DNA dapat dilakukan dengan berbagai metode, baik konvensional maupun menggunakan *kit*. Ekstraksi DNA secara konvensional bisa dilakukan antara lain dengan metode CTAB/NaCl metode SDS dan metode fenol kloroform. Seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, ekstraksi DNA dapat dilakukan menggunakan *kit* dari berbagai merk. Analisis molekuler dilakukan dalam berbagai bidang termasuk bidang mikrobiologi. Penelitian yang mengarah kepada analisis molekuler sudah banyak dilakukan sejak beberapa dekade terakhir, isolasi mtDNA pada *yeast* menggunakan teknik *dye-buoyant-density*, penelitian tentang isolasi DNA dari virus herpes dan sel yang terinfeksi menggunakan elektroforesis gel poliakrilamida, penelitian tentang perbandingan metode isolasi DNA bakteri *S.aureus* menggunakan detergen dan *guanidine hydrochloride* dan isolasi DNA plasmid *Butyrivibrio fibrisolvens* menggunakan bufer lisis SDS-NaCl dan *polyethylene glycol 6000* (Fitriya *dkk.*, 2015).

Dari latar belakang diatas peneliti memilih untuk melakukan analisis PCR menggunakan primer penanda *16S RNA* dalam mengidentifikasi jenis bakteri simbiosis spons terkait dengan senyawa bioaktif. Tahap yang dilakukan peneliti

adalah mengidentifikasi jenis – jenis mikroba atau bakteri simbiosis spons terkait dengan senyawa bioaktif pada level spesies sampai dengan varietas.

1.2 Identifikasi Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah, maka peneliti mengidentifikasi masalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan karakterisasi molekuler bakteri simbiosis spons terkait dengan sintesis senyawa bioaktif.
2. Perlu dilakukan analisis filogenetik pada isolat bakteri simbiosis spons menggunakan primer penanda *16S RNA*.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini sebagai berikut :

1. Penelitian ini melakukan karakterisasi molekuler bakteri simbiosis spons terkait dengan sintesis senyawa bioaktif

1.4 Rumusan Masalah

Masalah penelitian ini dirumuskan sebagai berikut :

1. Bagaimana karakterisasi molekuler isolat bakteri simbiosis spons berdasarkan sekuens gen *16S RNA* ?

1.5 Tujuan Penelitian

1. Untuk melakukan karakterisasi molekuler isolat bakteri simbiosis spons berdasarkan sekuens gen *16S RNA* ?

1.6 Manfaat penelitian

1. Sumber informasi dan masukan yang cukup berarti bagi pembaca mengenai kedudukan filogenetik isolat bakteri simbiosis spons yang terkait dengan senyawa bioaktif.
2. Sumber informasi bagi mahasiswa yang ingin meneliti lebih lanjut tentang isolat bakteri simbiosis spons terkait dengan senyawa bioaktif.



THE
Character Building
UNIVERSITY