BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Bakteri adalah kelompok organisme yang termasuk ke dalam domain prokariota dan berukuran kecil (mikroskopik), serta memiliki peran besar dalam kehidupan di bumi. Setiap bakteri memiliki jenis yang berbeda-beda. Hal ini yang menyebabkan beberapa kelompok bakteri dikenal sebagai agen penyebab infeksi dan penyakit, sedangkan kelompok lainnya dapat memberikan manfaat dibidang pangan, pengobatan, dan industri [1].

Mengetahui suatu jenis bakteri diperlukan adanya identifikasi. Identifikasi merupakan upaya untuk mengetahui nama suatu makhluk hidup dalam suatu kelompok tertentu berdasarkan karakteristik persamaan dan perbedaan yang dimiliki oleh masing-masing makhluk hidup. Identifikasi bakteri dilakukan dengan membandingkan ciri-ciri yang ada pada satuan yang belum diketahui dengan satuan-satuan yang sudah dikenal [2].

Proses identifikasi dilakukan dengan cara pengamatan terhadap organisme tersebut baik secara morfologi maupun fisiologi. Pengamatan secara morfologi dapat meliputi bentuk koloni, struktur koloni, bentuk sel, ukuran sel, bentuk flagel dan pewarnaan endospora dari bakteri. Pengamatan secara fisiologi yaitu meliputi uji biokimia. Selain itu identifikasi bakteri juga dapat dilakukan dengan cara identifikasi secara genetik yaitu dengan metode PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Metode PCR ini dilakukan dengan mengekstrak DNA bakteri kemudian diperbanyak dan dielektroforesis. Hasil elektroforesis akan menunjukan karakteristik dari DNA yang dimiliki [3].

Salah satu jenis bakteri yang telah teridentifikasi adalah *Bacillus* sp. *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang berbentuk batang, merupakan golongan bakteri gram positif, motil, dapat menghasilkan spora yang biasanya resisten pada panas, bersifat aerob (beberapa spesies bersifat anaerob fakultatif), katalase positif dan oksidasi bervariasi. Setiap spesies pada bakteri ini berbeda dalam penggunaan gula, sebagian melakukan fermentasi dan sebagian tidak [4].

Seftia Maulani (2015) dalam penelitiannya mengenai isolasi dan identifikasi bakteri pada tanah rhizosfer di kawasan Karst Citatah Kabupaten Bandung Barat

melaporkan bahwa terdapat beberapa genus bakteri yang berhasil diidentifikasi pada kawasan Karst, salah satunya adalah bakteri dengan kode K₂Br₅ yang telah teridentifikasi memiliki genus *Bacillus* sp. Hasil tersebut didapatkan berdasarkan serangkaian pengujian yaitu, uji biokimia, pengamatan makroskopik, pengamatan mikroskopik (pewarnaan gram dan pewarnaan endospora) dan potensi bakteri *Bacillus* sp. Hasil uji menunjukkan bahwa bakteri dengan kode K₂Br₅ termasuk bakteri gram positif, berbentuk batang, berwarna putih, tepian tak beraturan, elevasi datar dan permukaan mengkilat, sehingga disimpulkan bahwa bakteri dengan kode K₂Br₅ memiliki genus *Bacillus* sp. [5].

Nurhayati et al (2011) melaporkan bahwa identifikasi bakteri dengan uji fenotif kurang dapat memperjelas hasil identifikasi di tingkat strain [6]. Thoyibatun Nuroniyah dan Surya Rosa P (2017) menyatakan bahwa identifikasi bakteri berdasarkan karakter fenotip memiliki kelemahan, yakni sering terjadi kesalahan dalam membedakan spesies dan galur bakteri. Hal ini disebabkan adanya karakter fenotipik bakteri yang tidak biasa. Karakter fenotipik bakteri tidak bersifat statis dan dapat berubah seiring dengan perubahan kondisi organisme dan lingkungan hingga menyebabkan evolusi [7].

Kelemahan identifikasi bakteri *Bacillus* sp. K₂Br₅ karena menggunakan analisis fenotipik mendorong dilakukannya identifikasi bakteri dengan analisis genotip bakteri melalui pembacaan sekuen basa nitrogen pada nukleotida penyusun fragmen gen 16s rRNA bakteri. Metode ini dinilai lebih baik dibandingkan dengan metode analisis fenotip, karena gen 16s rRNA dari hampir seluruh spesies bakteri telah ditentukan urutan basa nitrogennya sehingga dapat dijadikan pedoman jika ditemukan spesies baru [8]. Selain itu urutan basa nitrogen gen 16s rRNA memiliki keragaman intraspesifik yang lebih rendah dibandingkan gen pengkode protein yang lain, serta sifat dari fragmen 16s rRNA yang lestari [9].

Berdasarkan hal di atas, dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi spesies bakteri *Bacillus* sp. K₂Br₅ dengan mengisolasi DNA kromosom bakteri *Bacillus* sp. K₂Br₅. DNA kromosom yang diperoleh selanjutnya diamplifikasi menggunakan instrumen *Polymerase Chain Reaction* (PCR) untuk memperoleh fragmen gen 16s rRNA. Fragmen yang diperoleh selanjutnya disekuensing untuk

mengetahui urutan nukleotida dan untuk mengetahui homologinya dengan urutan nukleotida fragmen gen 16s rRNA bakteri lain yang telah terdata pada bank gen.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka permasalahan yang perlu dirumuskan adalah sebagai berikut:

- 1. Apakah DNA kromosom *Bacillus* sp. K₂Br₅ berhasil diisolasi dengan metode lisis?
- 2. Apakah fragmen DNA *Bacillus* sp. K₂Br₅ berhasil diamplifikasi dengan instrumen *Polymerase Chain Reaction* (PCR)?
- 3. Bagaimana kekerabatan spesies dari isolat bakteri *Bacillus* sp. K₂Br₅?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan permasalahan yang telah dirumuskan, penelitian ini akan dibatasi pada beberapa masalah berikut:

- Sampel bakteri yang digunakan merupakan bakteri Bacillus sp. K₂Br₅ yang didapat dari Laboratorium Genetika dan Molekuler Jurusan Biologi UIN Sunan Gunung Djati Bandung.
- 2. Instrumen yang digunakan untuk memperbanyak fragmen DNA yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
- 3. Analisis urutan nukleotida yang akan dilakukan dengan metode dideoksi Sanger.
- 4. Program yang akan digunakan yaitu, Seqman, BLAST dan Bioedit.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang diajukan, tujuan dilakukannya penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 1. Mengisolasi DNA kromosom *Bacillus* sp. K₂Br₅ dengan metode lisis.
- 2. Mengamplifikasi fragmen DNA *Bacillus* sp. K₂Br₅ dengan instrumen *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
- 3. Mengidentifikasi spesies bakteri dari isolat *Bacillus* sp. K₂Br₅.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan memberikan informasi untuk pendidikan dan bidang lainnya yang memiliki kaitan dengan identifikasi bakteri yang ada pada kawasan tanah karst.

