

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang terletak pada kawasan *Pacific Ring of Fire* (ROF). Kawasan *Pacific Ring of Fire* terdiri atas rangkaian gunung berapi dan struktur tektonik aktif yang mengelilingi Samudra Pasifik mulai dari sebelah barat daerah pantai Amerika Utara dan Amerika Selatan, Pulau Aleutian di Alaska, sebelah timur daerah pantai Asia melewati Selandia Baru, hingga daerah utara pantai Antartika. Kawasan ROF dikenal sebagai tempat dengan aktivitas geologi paling aktif di bumi. Kawasan ROF memiliki frekuensi gempa bumi dan erupsi gunung berapi yang tinggi. Aktivitas vulkanik tertinggi pada kawasan ROF terletak di Indonesia, sehingga Indonesia memiliki potensi sumber energi geotermal yang besar untuk dimanfaatkan secara langsung dan tidak langsung. Indonesia tercatat memiliki sumber energi geotermal terbesar di dunia yaitu mencapai 40% dari cadangan sumber energi geotermal dunia dengan 256 wilayah potensial (Darma *et al.*, 2010; Masum & Akbar 2019).

Salah satu bentuk wilayah geotermal yang terdapat di Indonesia yaitu gunung lumpur (*mud volcano*). Gunung lumpur merupakan lumpur di bawah permukaan bumi yang keluar menuju permukaan (Kopf, 2002). Lumpur yang keluar menuju permukaan dapat berupa cairan, batuan atau gas yang berasal dari formasi batuan di kedalaman dengan kondisi *overpressure* (Burhanudinnur, 2019). Gunung lumpur mengandung cairan, gas hidrokarbon

yang didominasi oleh metana, dan gas-gas lainnya seperti CO₂, N, H₂S, Ar serta He (Chang *et al.*, 2012; Ranjibaran & Sotohian, 2015). Gunung lumpur termasuk dalam struktur geologi yang masih belum banyak diketahui (Maestrelli *et al.*, 2019; Panzera *et al.*, 2016). Indonesia memiliki banyak zona gunung lumpur atau *mud volcano*, salah satunya yaitu gunung lumpur Bledug Kesongo. Gunung lumpur Bledug Kesongo terletak dalam wilayah zona Randublatung yang dibatasi oleh zona Rembang di sebelah utara dan zona Kendeng di sebelah selatan (Burhanudinnur, 2019; Van Bemmelen, 1949).

Gunung lumpur Bledug Kesongo merupakan gunung lumpur aktif yang terletak di Desa Gabusan, Kecamatan Jati, Kabupaten Blora, Provinsi Jawa Tengah. Sebagian besar daerah Bledug Kesongo tertutupi lumpur yang telah mengeras dan berwarna abu-abu putih (Novian *et al.*, 2013). Gunung lumpur adalah tempat yang memiliki kemungkinan dijadikan sebagai habitat terdapatnya mikroba potensial dan dapat dikembangkan dengan luas. Potensi Bledug Kesongo masih belum banyak dieksplorasi dibandingkan gunung lumpur lainnya. Potensi mikroba di gunung lumpur yang sudah diteliti sebelumnya diantaranya yaitu kemampuan oksidasi sulfur dan metana mikroba melalui pendekatan metagenomik di gunung lumpur Kerch Peninsula (Mardanov *et al.*, 2020), potensi bakteri halotoleran dalam biodegradasi mikroplastik polietilen di Bledug Kuwu (Adhitama *et al.*, 2023), potensi produksi senyawa antibakteri dan anti malaria bakteri gunung lumpur Lapindo (Arifiyanto dkk., 2021), serta kemampuan produksi protease termostabil di lumpur panas Danau Linow Timohon (Manik & Simanjutak, 2020).

Potensi mikroba Bledug Kesongo dapat dikembangkan melalui bioprospeksi. Bioprospeksi merupakan proses pencarian sistematis yang memungkinkan peneliti mengeksplorasi keanekaragaman hayati dan mengidentifikasi molekul, mikroba serta enzim baru untuk diteliti dan diaplikasikan pada dalam industri (Beattie *et al.*, 2011; AfifaHussain *et al.*, 2022). Strategi bioprospeksi dapat dilakukan pada tingkat mikroorganisme (metagenomik), molekul (metabolomik), dan enzim (proteomik atau transkriptomik) (Becker & Wittmann, 2020). Salah satu bioprospeksi mikroorganisme yang dapat dieksplorasi dari Bledug Kesongo yaitu potensi bakteri haloalkalifilik dalam menghasilkan senyawa polihidroksialkanoat (PHA).

Bakteri haloalkalifilik merupakan bakteri yang teradaptasi mampu hidup pada salinitas tinggi dan pH alkalin atau basa (Purohit *et al.*, 2014). Senyawa polihidroksialkanoat (PHA) merupakan biopolimer yang disintesis oleh bakteri sebagai cadangan energi dan sumber karbon dalam bentuk granula intraseluler (Mannina *et al.*, 2020). Mikroorganisme haloalkalifilik diketahui memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa polihidroksialkanoat. Produksi senyawa PHA oleh bakteri di lingkungan hipersalinitas berkaitan erat dengan strategi adaptasi. Bakteri pada lingkungan kadar garam tinggi menjaga tekanan osmotik selnya dengan mengakumulasi garam K^+ atau zat terlarut kompatibel (*compatible solutes*) (Youssef *et al.*, 2014). Senyawa PHA mampu berperan sebagai *compatible solute* untuk melindungi sel bakteri dari kerusakan akibat cekaman salinitas yang tinggi (Obruca *et al.*, 2022).

Polihidroksialkanoat (PHA) merupakan biopolimer dengan potensi pemanfaatan yang luas, salah satunya yaitu sebagai bahan pembuatan plastik organik yang mudah didegradasi (*biodegradable plastic*). Senyawa polihidroksialkanoat memiliki kegunaan yang multifungsi dengan sifat *biocompatible*, *biodegradable*, *renewable*, dan *sustainable* (Koller *et al.*, 2017). Berdasarkan tingginya fitur *biodegradability*, *composability*, dan non-toksik; senyawa PHA dijadikan sebagai kandidat yang menjanjikan dalam menggantikan (atau dikombinasikan) plastik berbasis petroleum seperti *polystyrene* atau *polypropylene* (Chen, 2010). PHA kemungkinan sebagian besar akan diprospeksikan sebagai bahan dasar dalam industri bioplastik. PHA akan digunakan sebagai bahan plastik kemasan dengan masa simpan yang pendek dan mudah didegradasi (Israni and Shivakumar, 2019).

PHA diproduksi oleh mikroba-mikroba yang dieksplorasi dari berbagai habitat. Sebanyak lebih dari 300 spesies bakteri telah diidentifikasi mampu menghasilkan senyawa PHA, namun hanya sebagian kecil yang digunakan dalam industri salah satunya yaitu *Rashtonia eutropha* (Aznury dkk., 2010; Suriyamongkol dkk., 2007). Eksplorasi pencarian mikroba potensial penghasil PHA penting untuk dilakukan guna menemukan spesies yang baik dalam memproduksi PHA. Bakteri haloalkalifilik dianggap menjadi salah satu kandidat yang menjanjikan dalam pengembangan produksi PHA. Keunggulan bakteri haloalkalifilik sebagai penghasil PHA yaitu mereka teradaptasi untuk hidup pada salinitas tinggi dan memungkinkan mengurangi kemungkinan kontaminasi mikroba saat proses produksi (Kourmentza *et al.*, 2017); selnya

mudah dilisiskan sehingga dapat mengurangi biaya produksi (Quillaguman *et al.*, 2010); dapat menggunakan bahan baku yang murah untuk memproduksi PHA sehingga mengurangi biaya fermentasi (Obruca *et al.*, 2018).

Beberapa penelitian sebelumnya telah melakukan eksplorasi mikroba potensial penghasil PHA, isolasi mikroba dilakukan di berbagai tempat seperti air selokan (Chetia, 2019); tanah rumah, tanah kebun, tanah stasiun pengisian bahan bakar, limbah pertanian (Aljuraifani *et al.*, 2018); dan air limbah industri kertas (Munir *et al.*, 2015). Penelitian eksplorasi bakteri haloalkalifilik sebagai penghasil PHA pernah dilakukan di Danau Simbi Nyaima, sebuah danau hipersalin yang terletak di Kenya bagian barat. Hasil menunjukkan ditemukannya *Halomolas alkalicola* sebagai penghasil senyawa PHBV pada media dengan kondisi salinitas tinggi dan pH basa (Muigano *et al.*, 2024). Eksplorasi bakteri haloalkalifilik penghasil PHA di habitat gunung lumpur masih jarang dilakukan. Eksplorasi bakteri haloalkalifilik dari gunung lumpur Bledug Kesongo perlu dilakukan, sebab gunung lumpur merupakan wilayah potensial untuk menemukan bakteri penghasil senyawa PHA.

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini akan melakukan isolasi bakteri haloalkalifilik di kawasan Bledug Kesongo hingga diperoleh isolat murni. Isolat murni kemudian dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis lalu diuji kemampuannya dalam menghasilkan senyawa polihidroksialkanoat (PHA) melalui skrining dan uji akumulasi PHA. Isolat dengan kemampuan terbaik akan diidentifikasi molekuler berdasarkan gen 16S rRNA untuk mengetahui spesies isolat.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang hendak dikaji yaitu sebagai berikut.

- 1.2.1 Bagaimana keragaman makroskopis dan mikroskopis bakteri haloalkalifilik yang diisolasi dari gunung lumpur Bledug Kesongo?
- 1.2.2 Apakah isolat bakteri haloalkalifilik Bledug Kesongo memiliki kemampuan menghasilkan senyawa polihidroksialkanoat?
- 1.2.3 Apa spesies isolat bakteri haloalkalifilik penghasil senyawa polihidroksialkanoat terbaik berdasarkan identifikasi molekuler gen 16S rRNA?

1.3 Tujuan

Tujuan penelitian yang hendak dicapai adalah sebagai berikut.

- 1.3.1 Mengetahui keragaman makroskopis dan mikroskopis bakteri haloalkalifilik yang diisolasi dari gunung lumpur Bledug Kesongo.
- 1.3.2 Menganalisis kemampuan produksi senyawa polihidroksialkanoat dari isolat bakteri haloalkalifilik gunung lumpur Bledug Kesongo.
- 1.3.3 Mengidentifikasi spesies isolat bakteri haloalkalifilik penghasil senyawa polihidroksialkanoat terbaik berdasarkan identifikasi molekuler gen 16S rRNA.

1.4 Manfaat

Hasil dari penelitian ini bermanfaat sebagai sumber kajian ilmiah terkait keragaman bakteri haloalkalifilik dari gunung lumpur Bledug Kesongo dan potensinya dalam memproduksi senyawa polihidroksialkanoat, sehingga dapat diaplikasikan di berbagai bidang.