

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penggunaan mikroorganisme antagonis sebagai agen pengendali hayati memberikan harapan baru untuk pengendalian hama pertanian terutama fungi yang bersifat patogen. Secara alamiah, pada tanah terdapat mikroorganisme yang berpotensi untuk menekan perkembangan patogen dalam tanah karena dapat bersifat antagonis (Paul, 2007:488-489).

Bakteri dilaporkan bisa menekan pertumbuhan fungi patogen dalam tanah secara alamiah. Terdapat beberapa genus bakteri yang berasosiasi dengan tanaman sebagai penghambat pertumbuhan jamur, yaitu *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Rhizobium*, *Flavobacterium*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Serratia*, *Streptomyces*, *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Herbaspirillum* dan *Pseudomonas* (Botelho *et al.*, 2006:402; Tilak *et al.*, 2005:137). Menurut Haas and Devago (2005:2), bakteri yang berasosiasi dengan akar tanaman ini dinamakan *Plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR), bakteri ini akan menstimulasi pertumbuhan tanaman dan melindungi tanaman dari serangan penyakit.

Hasil Penelitian Anisah (2008:61) ditemukan dua isolat bakteri terpilih yang berpotensi sebagai agen antagonis yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan aktif biofungisida. Isolat bakteri tersebut diberi nama isolat B1 yang berasal dari hasil isolasi bakteri rizosfer bawang daun (*Allium fistulosum L.*), sedangkan isolat bakteri kedua berasal dari BALITSA (Balai Penelitian Sayuran) Lembang dan

diberi nama bakteri isolat G1 yang diisolasi dari tanaman *Mimosa sp.* Hasil pengujian secara *in vitro* yang dilakukan oleh Anisah (2008:61) menunjukkan bahwa isolat bakteri B1 dan G1 terbukti memiliki aktivitas antagonisme terhadap jamur *Fusarium sp.* Untuk Selanjutnya isolat bakteri B1 disebut AFE-1 dan isolat G1 disebut BLS-1.

Identifikasi bakteri pada saat ini masih dilakukan secara konvensional melalui studi morfologi dan biokimia menggunakan buku sumber *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Metode identifikasi konvensional hanya berhasil mendeteksi satu atau dua jenis bakteri saja atau satu persen dari total mikroba dalam tanah. Metode ini memperbesar kemungkinan bakteri lain yang memiliki fenotip yang sama teridentifikasi menjadi spesies yang sama, padahal keduanya belum tentu secara genetik memiliki kesamaan. Sementara itu, bakteri jenis tertentu terkadang memiliki kemampuan membentuk endospora, sehingga hanya aktif pada waktu tertentu sesuai kondisi optimum pertumbuhannya. Hal ini dapat menghambat proses identifikasi bakteri menggunakan metode konvensional (Gonzalez *et al.*, 2005:189).

Sistem identifikasi konvensional yang digunakan pada saat ini membatasi proses identifikasi hanya sampai taksa genus atau sampai spesies untuk beberapa jenis bakteri tertentu. Sementara itu, data di lapangan menunjukkan perubahan *database* spesies bakteri dari waktu ke waktu (Anzai *et al.*, 2000:1563). Untuk mengidentifikasi secara pasti pada tingkatan spesies diperlukan analisis lanjut secara molekuler. Teknik identifikasi menggunakan metode biologi molekuler telah berhasil mengidentifikasi kelompok mikroorganisme dari lingkungan secara

spesifik (Macrae, 2000:79; Gonzalez *et al.*, 2005: 190). Sampai saat ini, pada situs *International Code of Nomenclature of Bacteria* (<http://www.bacterio.cict.fr/number.html#total>) tercatat sebanyak 9.266 spesies bakteri yang sudah teridentifikasi, jumlah ini mengalami penambahan dari sejumlah 8.168 spesies pada tahun 2007 (Janda and Abbott, 2007:2761). Peningkatan jumlah ini diperoleh dari berbagai hasil penelitian bakteri pada tingkatan molekuler yang diterbitkan pada *International Journal of Systematic Bacteriology* dan *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.

Teknik yang saat ini populer untuk mengidentifikasi dan menganalisis komunitas mikroorganisme tanah adalah dengan menggunakan teknologi analisis sikuen gen *16S rRNA* atau *16S rDNA* (Clarridge, 2004:840; Janda and Abbott, 2007:2761). Gen ini adalah gen yang mengkode RNA ribosomal pada subunit kecil ribosom (*16S* untuk prokariot) dan memiliki urutan yang khas dan berbeda pada setiap bakteri, sehingga bisa dijadikan penanda molekuler untuk proses identifikasi (Gonzalez *et al.*, 2005:189; Paul, 2007:105-106). Data sikuen gen hasil studi molekuler bakteri menggunakan penanda gen *16S rRNA* dapat dijadikan alat untuk studi evolusioner pada tingkat organisme prokariotik (Dale and Park, 2004:264). Hasil analisis filogenetik bakteri berbasis gen *16S rRNA* saat ini bahkan sudah menjadi pelengkap pada buku sumber *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* edisi kedua (Garrity *et al.*, 2004:34).

Pada proses identifikasi bakteri yang bersifat antagonis terhadap *Fusarium sp.*, sampel DNA bakteri yang berhasil diisolasi kemudian diamplifikasi secara *in*

vitro dengan primer spesifik untuk gen *16S rRNA* menggunakan mesin PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan hasilnya dielektroforesis menggunakan gel agarosa. Sampel DNA bakteri yang telah diamplifikasi menggunakan primer gen *16S rRNA* selanjutnya disekuensing untuk memperoleh urutan sikuen gen *16S rRNA*. Sikuen hasil sikuensing selanjutnya dianalisis menggunakan program komputer BLAST (*Basic Local Alignment Search Tools*) dan dibandingkan dengan nukleotida yang ada pada *database "GenBank"* (NCBI) (Macrae, 2000:79; Gonzalez *et al.*, 2005:190; Holmes, 2007:24). Dari hasil analisis tersebut diharapkan kita dapat mengetahui sampai tingkatan spesies atau subspecies isolat bakteri AFE-1 dan BLS-1 yang merupakan antagonis jamur *Fusarium sp.* asal bawang daun (*Allium fistulosum L.*).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas dapat dirumuskan masalah dari penelitian ini, yaitu : “Bagaimana identifikasi dan karakterisasi isolat bakteri AFE-1 dan BLS-1 yang antagonis terhadap jamur *Fusarium sp* menggunakan metode analisis sikuen gen *16S rRNA* ?”

Rumusan masalah di atas dapat diuraikan menjadi pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Bagaimana karakterisasi morfologi dan fisiologi bakteri AFE-1 dan BLS-1 sebagai agen antagonis fungi patogen *Fusarium sp.* pada bawang daun (*Allium fistulosum L.*) ?
2. Bagaimana karakterisasi urutan nukleotida gen *16S rRNA* dari isolat bakteri AFE-1 dan BLS-1 ?

3. Spesies apakah isolat bakteri AFE-1 dan BLS-1 yang dianalisis menggunakan sikuen gen *16S rRNA* ?

C. Batasan Masalah

1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini (AFE-1 dan BLS-1) diperoleh dari hasil penelitian Anisah (2008).
2. Primer yang digunakan adalah *forward* primer 63F dan *reverse* primer 1387R (Marchesi *et al.*, 1998:795; Park *et al.*, 2005:346).

D. Tujuan Penelitian

Mengidentifikasi isolat bakteri AFE-1 dan BLS-1 yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium sp.* sampai tingkatan taksa terendah (spesies atau subspecies) secara molekuler.

E. Manfaat Penelitian

1. Dapat diketahui spesies bakteri isolat AFE-1 dan BLS-1 secara pasti sampai taksa terendah, sehingga isolat bakteri bisa diperbanyak dan dikomersialisasikan untuk kepentingan pengendalian fungi patogen *Fusarium sp.*
2. Dapat digunakan sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut tentang pengendalian fungi patogen secara biologis menggunakan mikroorganisme antagonis.