

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara tropis dengan keanekaragaman hayati sangat tinggi (*megabiodiversity*) termasuk di dalamnya tanaman obat. Banyak tanaman yang dipercaya masyarakat dapat dijadikan sebagai obat tradisional. Salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah *Ageratum conyzoides* L. *A. conyzoides* adalah tanaman dari famili Asteraceae yang tergolong tanaman herba dan mudah dijumpai di seluruh penjuru dunia termasuk di Indonesia. Di Indonesia, tanaman ini digolongkan sebagai gulma sehingga sering dimusnahkan. Namun beberapa kelompok masyarakat kita menggunakan tanaman ini sebagai obat tradisional untuk menyembuhkan berbagai macam penyakit seperti luka koreng di kulit, malaria, influenza, radang paru-paru dan tumor. Di negara lain di Asia, Afrika dan Amerika Latin, tanaman ini juga digunakan sebagai obat tradisional dengan beragam aplikasi, seperti obat demam, rematik, sakit kepala, sakit perut, obat pneumonia, obat diare, dan diabetes (Ming, 1999).

Daun *A. conyzoides* memiliki potensi sebagai tanaman obat karena memiliki kandungan kimia seperti saponin, flavonoid dan polifenol yang mampu mengobati berbagai macam jenis penyakit di antaranya demam, rematik, sakit kepala, dan sakit perut. Beberapa penelitian telah dilakukan sebelumnya di Program Studi Biologi Universitas Pendidikan Indonesia untuk mengetahui

metabolit sekunder yang terkandung dalam daun *A. conyzoides* di antaranya beta-caryophyllene, precocone II (6,7-dimethoxy, 2,2-dimethyl Ageratochrome), phytol, dan flavonoid yang dipercaya sebagai antifungi *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes* (Hapsakti, 2009; Hardikasari, 2009). Ekstrak daun *Ageratum conyzoides* juga digunakan sebagai antibakteri *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Desiarianty, 2009; Sari, 2009; Rosantika, 2009). Untuk keragaman bakteri pada filosfer *A. conyzoides* belum pernah dilakukan. Metabolit sekunder yang dihasilkan ini tidak terlepas dari peranan mikroba salah satunya bakteri filosfer (Radji, 2005).

Filosfer memiliki keragaman mikroba sebagai penghuninya dan bakteri merupakan populasi penghuni terbanyak (Lindow & Brandl, 2003). Filosfer adalah populasi mikroba yang menghuni sekitar permukaan daun. Keragaman bakteri pada filosfer *A. conyzoides* ini dapat dilihat dari perbedaan karakteristik morfologi seperti bentuk koloni, tepian koloni, kenaikan permukaan (elevasi) dan warna koloni (Cappuccino & Sherman, 1987). Selain dilihat karakteristik morfologi dapat dilihat pula aktivitas biokimianya, dengan mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi protein oleh enzim protease. Hasil degradasi protein berupa senyawa peptida atau asam amino diduga sebagai elisitor untuk sintesis metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antifungi dan antibakteri (Angelova *et al.*, 2006; Veit *et al.*, 2001).

Protease merupakan enzim yang mampu memecah ikatan peptida menjadi molekul-molekul protein yang lebih sederhana (asam amino). Bakteri filosfer *A. conyzoides* ini diharapkan mampu menghasilkan enzim protease yang akan

mendegradasi protein menjadi senyawa peptida dan asam amino lainnya yang nantinya dapat menginduksi dihasilkannya metabolit sekunder secara *in vivo* sebagai antifungi dan antibakteri. Beberapa protein dan senyawa peptida yang dapat menjadi elisitor untuk metabolit sekunder di antaranya oligogalakturonide, elicitin, harpin, flagelin, protein atau peptida toksin seperti victorin, glutathion, oligandrin, dan syringolin (Angelova *et al.*, 2006).

Kemajuan ilmu pengetahuan dan teknologi memungkinkan kita untuk mengidentifikasi mikroorganisme bukan hanya dari sisi morfologinya dan aktivitas biokimianya saja, tetapi ada teknik yang lebih akurat untuk menentukan spesies bahkan sampai ke tingkat subspecies suatu mikroorganisme dengan penanda gen *16S rRNA* atau *16S rDNA* (Clarridge, 2004:840; Janda & Abbott, 2007:2761). Gen ini adalah gen yang mengkode RNA ribosomal pada subunit kecil ribosom (*16S rRNA* untuk prokariot) dan memiliki urutan yang khas dan berbeda pada setiap bakteri, sehingga dapat dijadikan penanda molekuler untuk proses identifikasi (Gonzalez & Saiz-Jimenez, 2005:190). Penggunaan sekuens gen *16S rRNA* untuk mempelajari filogeni dan taksonomi bakteri sejauh ini yang paling umum digunakan genetik marker dengan alasan dimana gen ini relatif konstan dan tidak berubah dalam jangka waktu yang sangat lama atau dengan kata lain laju mutasinya sangat kecil (Janda & Abbott, 2007). Hasil sekuensing selanjutnya dianalisis bioinformatika menggunakan program komputer BLAST (Basic Local Alignment Search Tools) dan disejajarkan dengan nukleotida yang ada pada database "GenBank" (NCBI) (Gonzalez & Saiz-Jimenez, 2005:191). Hasil analisis bioinformatika tersebut diharapkan dapat diketahui isolat bakteri

yang positif sebagai pendegradasi protein sampai tingkatan spesies atau subspecies.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas dapat dirumuskan masalah dari penelitian ini, yaitu : “Bagaimana keragaman bakteri dan potensi isolat pendegradasi protein pada bakteri filofit *A. conyzoides* L.?”

C. Pertanyaan Penelitian

Dari rumusan masalah dapat dituliskan pertanyaan penelitian sebagai berikut :

1. Bagaimana keragaman bakteri pada filofit *A. conyzoides* L.?
2. Berapa jumlah isolat bakteri yang positif pendegradasi protein?
3. Spesies apakah yang positif pendegradasi protein paling tinggi yang dianalisis menggunakan sekuen gen *16S rRNA* ?

D. Batasan Masalah

1. Isolat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari isolat bakteri yang diisolasi dari filofit *A. conyzoides* L.
2. *A. conyzoides* L.yang diambil berasal dari Kebun Botani UPI.
3. Keragaman isolat bakteri dilihat dari karakteristik morfologi (bentuk, warna, tepian, kenampakan dan kenaikan permukaan), dan pewarnaan Gram (Cappuccino & Sherman, 1987).
4. Uji aktivitas biokimia yang digunakan uji hidrolitik protein.

5. Isolat bakteri yang digunakan untuk isolasi DNA diperoleh dari isolat bakteri yang positif pendegradasi protein paling tinggi.
6. Primer yang digunakan adalah *forward* primer 63F dan *reverse* primer 1387R (Marchesi *et al.*, 1998:795).

E. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui keragaman bakteri filofser *A. conyzoides* L. dan isolat pendegradasi protein.
2. Mengetahui dan mengidentifikasi isolat bakteri yang memiliki potensi mendegradasi protein paling tinggi sampai tingkatan taksa terendah (spesies atau subspecies) secara molekuler.

F. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini yaitu :

1. Dapat mengetahui keragaman bakteri filofser *A. conyzoides* L. dilihat dari karakteristik morfologi dan mengetahui jumlah isolat bakteri yang dapat mendegradasi protein.
2. Dapat mengetahui spesies bakteri yang memiliki potensi proteolitik paling tinggi secara pasti sampai taksa terendah, sehingga isolat bakteri bisa diperbanyak yang nantinya dapat dikomersilkan dalam berbagai bidang khususnya bidang industri.