

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Tanah merupakan suatu sistem terpadu yang saling terkait dalam berbagai kondisi fisik, kimia serta proses biologi yang secara nyata dipengaruhi oleh faktor lingkungan (Rai *et al.*, 2010). Tanah juga merupakan habitat, kompleks yang dinamis dan hidup untuk sejumlah besar organisme, termasuk wakil-wakil dari semua kelompok mikroorganisme, alga, dan hampir semua filum hewan. Seperti yang kita ketahui bahwa mikroorganisme dalam tanah memiliki peranan penting dalam mempertahankan kualitas tanah dan keseimbangan ekosistem, dan berpotensi sebagai indikator biologis yang sensitif dalam perubahan lingkungan (Zhang, 2006). Mikroorganisme tanah menyediakan keterkaitan biologi dengan lingkungan fisik dan kimia tanah, mempengaruhi lingkungan, dan pada gilirannya terpengaruhi oleh lingkungan itu sendiri (Rai *et al.*, 2010).

Rizosfer merupakan salah satu relung yang dihuni sebagian besar bakteri (Andreote *et al.*, 2009) dimana bakteri-bakteri tersebut masih perlu diteliti untuk diketahui keragamannya. Bakteri merupakan bagian penting dari mikroflora tanah karena kelimpahan mereka yang dapat mencapai  $10^9$  sel per gram tanah (Zhang, 2006). Keragaman bakteri tidak hanya dapat dilihat dari aspek morfologi dan fisiologi saja, tetapi juga dari genetik.

Dalam rizosfer terjadi interaksi dan interelasi antara mikroorganisme dan akar, artinya aktivitas mikroorganismenya dalam zona tersebut akan dipengaruhi

oleh eksudat akar yang diproduksi, dan sebaliknya metabolisme tanaman akan dipengaruhi aktivitas mikroorganisme yang berada dalam zona tersebut. Hubungan interaksi yang menguntungkan di dalam rizosfer merupakan salah satu fenomena yang dapat dikembangkan dan dimanfaatkan untuk meningkatkan produktivitas tanaman atau pun kesuburan tanah untuk pertanian.

Indonesia sebagai negara yang kaya dengan keanekaragaman hayati memiliki sekitar 30.000 jenis tumbuhan dan 7.000 diantaranya berkhasiat sebagai obat (Rosantika, 2009). Salah satu jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat tradisional ini adalah *Ageratum conyzoides* (Ming, 1999). *Ageratum conyzoides* merupakan tanaman herba tahunan yang dapat tumbuh hampir di seluruh penjuru dunia. Tumbuhan ini banyak digunakan sebagai obat tradisional di beberapa negara terutama daerah tropik dan subtropik, walaupun penggunaannya berbeda dari satu daerah ke daerah lain. Tumbuhan ini digunakan untuk mengobati pneumonia, reumatik, sakit kepala, dan luka bakar di Afrika. Di India tumbuhan ini digunakan sebagai antidisentri dan bakteriosida.

*Ageratum conyzoides* yang dikenal di Indonesia dengan sebutan bandotan merupakan tumbuhan liar dan lebih dikenal sebagai tumbuhan pengganggu (gulma) di kebun dan di ladang. *Ageratum conyzoides* telah lama diketahui memiliki khasiat herbal sebagai obat untuk berbagai penyakit di Afrika, Asia, dan Amerika Utara (Oladejo *et al.*, 2003). *Ageratum conyzoides* diketahui memiliki bioaktivitas dengan aktifitas insektisida dan nematosidal (Ming, 1999). Bahkan diketahui *A. conyzoides* dapat digunakan sebagai insektisida nabati.

Suganda (2008) menyatakan bahwa aktivitas biologi dan kandungan senyawa kimia yang ada pada tumbuhan secara kualitas dan jumlah tidak terlepas dari berbagai macam faktor lingkungan tempat tumbuh seperti faktor abiotik, air, temperatur, cahaya, tanah dan nutrisi, serta ketinggian tempat tumbuh. Menurut Saha (2007), tumbuhan merupakan sumber utama yang menentukan kehidupan dalam tanah. Tumbuhan menyediakan kebutuhan nutrisi, perlindungan, dan menentukan mikroklimatik pada organisme tanah. Bakteri memanfaatkan substrat organik atau eksudat tumbuhan sebagai sumber energi dan nutrisinya (Purwaningsih *et al.*, 2003). Begitu pun sebaliknya beberapa bakteri dapat menyediakan unsur hara yang dibutuhkan tumbuhan bahkan perlindungan bagi tumbuhan asosiasinya. Keadaan demikian menunjukkan bahwa kehadiran suatu organisme akan mempengaruhi keberadaan organisme lain secara langsung maupun tidak langsung.

Mikroba tanah adalah salah satu komunitas biota yang sangat menarik untuk dipelajari dalam rangka untuk mengetahui keberadaan mereka dan manfaatnya. Mikroba tanah, seperti bakteri memiliki peran penting dalam kehidupan di bumi, karena mempengaruhi siklus biologi dan kimia diantara kehidupan flora, fauna, dan mikroba itu sendiri. Siklus nitrogen merupakan salah satu aktivitas penting bagi bakteri. Tumbuhan memerlukan nitrogen dari dalam tanah untuk kesuburan dan pertumbuhan mereka, dan tidak dapat memperolehnya dari gas nitrogen di atmosfer. Cara utama agar nitrogen ini tersedia bagi tumbuhan adalah melalui fiksasi nitrogen oleh bakteri, seperti Rhizobacteria. Bakteri ini

mengubah gas nitrogen menjadi nitrat atau nitrit sebagai hasil metabolisme mereka, dan kemudian melepaskannya ke lingkungan.

Sekitar 15 tahun yang lalu disadari bahwa gen dan materi molekul lainnya yang ada di lingkungan berasal dari organisme yang hidup disana, sehingga inventarisasi molekul (seperti subunit kecil rRNA) lebih dipilih untuk inventarisasi organisme. Untuk mikroorganisme, data molekuler sering memberikan kekayaan informasi terbesar karena mikroorganisme seperti bakteri tidak hanya memiliki keragaman bentuk untuk membuat karakteristik morfologi dalam membangun filogeni. Selain dari derivasi taksonomi, analisis filogenetik juga penting dalam mengidentifikasi kesamaan antara organisme (Hill *et al.*, 2000).

Metode yang dapat digunakan dalam menelusuri keragaman mikroba tanah dapat dikategorikan menjadi dua kelompok, yaitu analisis biokimia dan teknik molekuler. Salah satu teknik yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi dan menganalisis komunitas mikroorganisme secara molekuler adalah dengan menggunakan teknologi penanda gen 16S rRNA atau 16S rDNA. 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.

Perbanyakan gen dengan menggunakan amplifikasi PCR 16S rDNA merupakan pendekatan yang sukses untuk mengeksplorasi keragaman mikroba dan menentukan komposisi spesies dari komunitas mikroba campuran (Muyzer, 2001). Untuk menentukan kekerabatan antar organisme penggunaan data

morfologi, ontogeni, tingkah laku, dan pola-pola persebaran memiliki beberapa kelemahan, begitu pula dengan bukti embriologi dan anatomi memiliki keterbatasan dalam jumlah karakter dibandingkan dengan data kimiawi, maka saat ini banyak peneliti yang menggunakan karakter DNA sebagai sumber data kimiawi untuk merekonstruksi hubungan kekerabatan (Clegg & Durbin, 1990).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka perlu dilakukan dan dikembangkan penelitian **“Keragaman dan Hubungan Kekerabatan Bakteri Ektorizosfer *Ageratum conyzoides* dengan Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis (ARDRA)”**.

### **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas dapat dirumuskan masalah dari penelitian ini, yaitu: “Bagaimanakah pola keragaman dan kekerabatan populasi bakteri ektorizosfer *Ageratum conyzoides* dengan ARDRA?”

### **C. Pertanyaan Penelitian**

Dari rumusan masalah dapat dituliskan pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pola keragaman restriksi gen 16S rDNA pada bakteri ektorizosfer *Ageratum conyzoides* setelah dianalisis dengan menggunakan ARDRA?
2. Bagaimanakah hubungan kekerabatan populasi bakteri ektorizosfer *A. conyzoides*?

#### D. Batasan Masalah

1. Sampel yang digunakan berasal dari tanah yang melekat di permukaan akar *Ageratum conyzoides* yang telah berbunga dari Kebun Botani UPI.
2. Penanda genetik yang digunakan adalah penanda 16S rDNA.
3. Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen 16S rDNA adalah 63f dan 1387r (Marchesi *et al.*, 1998).
4. Enzim restriksi yang digunakan adalah *HhaI* dan *MspI*.

#### E. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengidentifikasi pola keragaman restriksi gen 16S rDNA pada bakteri ektorizosfer *Ageratum conyzoides*.
2. Menganalisis hubungan kekerabatan populasi bakteri ektorizosfer *A. conyzoides* berdasarkan hasil kloning dengan menggunakan metode ARDRA.

#### F. Manfaat Penelitian

Dengan adanya penelitian ini kita dapat mengetahui keragaman genetik bakteri ektorizosfer yang ada di sekitar akar *Ageratum conyzoides*.