

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tumbuhan merupakan salah satu sumber yang penting dalam menghasilkan obat-obatan. Salah satu penyebab tumbuhan dapat menghasilkan obat-obatan karena tumbuhan mengandung senyawa bioaktif (Mahidol *et al.*, 2002). Senyawa bioaktif yang menghasilkan obat-obatan tersebut memiliki efektivitas tinggi dalam menghambat infeksi bakteri, virus, fungi dan parasit baru. Selain itu, dewasa ini pencarian senyawa bioaktif berkembang dengan pesat (Keller & Nugraha, 2011).

Indonesia kaya akan tumbuhan obat yang mengandung senyawa bioaktif dan telah digunakan secara tradisional dari generasi ke generasi untuk menyembuhkan penyakit. Berbagai senyawa bioaktif yang dimiliki oleh tumbuhan–tumbuhan tersebut telah banyak diidentifikasi, diisolasi dan diekstraksi sehingga senyawa bioaktif itu dapat dimanfaatkan sebagai anti bakteri, anti fungi, anti virus dan anti parasit lainnya (Keller & Nugraha, 2011). Tumbuhan memiliki kemampuan untuk mensintesis senyawa bioaktif yang berbeda, yang sebagian besar adalah kelompok fenol (Gogoi *et al.*, 2014). Sebagian besar senyawa bioaktif merupakan metabolit sekunder dari tumbuhan. Metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif tumbuhan sudah banyak diisolasi, kurang lebih sudah 13.000 yang telah diisolasi atau 10% dari total metabolit sekunder (Goud *et al.*, 2008). Salah satu tumbuhan obat yang memiliki senyawa bioaktif tersebut yaitu Babadotan (*Ageratum conyzoides* L.) dan Akar Wangi (*Vetiveria zizanioides* L.) (Kamboj & Saluja, 2011 ; Prajna *et al.*, 2013).

Selain tumbuhan ternyata senyawa bioaktif juga dihasilkan oleh mikroorganisme endofit yang berada di dalam tumbuhan itu sendiri (Koberi *et al.*, 2013). Beragam produk alami molekul bioaktif berukuran kecil telah ditemukan dalam mikroorganisme endofit. Lebih dari 230 metabolit sudah diisolasi dan diidentifikasi dari 70 strain lebih

mikroorganisme endofit tumbuhan (Gunatilaka, 2006). Bakteri merupakan salah satu contoh mikroorganisme endofit yang memiliki senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai anti fungi (Kim *et al.*, 2010).

Anti fungi yang dihasilkan mikroorganisme diklasifikasikan berdasarkan mekanisme aksi dari anti fungi tersebut yang mencakup inhibitor sintesis komponen dinding sel (glukan, kitin dan mannoprotein), inhibitor sintesis sphingolipid (*serine palmitoyltransferase*, *ceramide synthase*, *inositol phosphoceramide synthase* dan elongasi asam lemak) dan inhibitor sintesis protein. Mekanisme anti fungi inhibitor terhadap dinding sel merupakan mekanisme efektif, karena walaupun dinding sel fungi memiliki komposisi bervariasi namun ada tiga komponen polimer umum yang dimiliki setiap fungi yaitu kitin, mannoprotein dan glukan. Sintesis glukan adalah satu-satunya komponen dari dinding sel yang berhasil menyebabkan perkembangan obat baru khususnya anti fungi (Vicente *et al.*, 2003).

Senyawa bioaktif dihasilkan oleh bakteri endofit yang bersifat anti fungi dan mengganggu sintesis glukan yaitu dari keluarga lipopeptida. Lipopeptida terdiri dari keluarga iturin, fengisin dan surfaktin. Lipopeptida terdiri dari 7 α -asam amino (surfaktin, iturin) atau 10 α -asam amino (fengisin) yang terikat dengan β -amino (iturin) atau β -hidroksi (surfaktin, fengisin) asam lemak. Lipopeptida ini telah diidentifikasi dari berbagai variasi bakteri (Meena & kanwar, 2015 ; Vicente *et al.*, 2003). Lipopeptida ini menarik perhatian karena dapat digunakan sebagai alternatif penggunaan bahan kimia surfaktan untuk mengendalikan penyakit dan memiliki potensi yang dapat diaplikasikan sebagai anti fungi. Lipopeptida yang bersifat anti fungi sebagian besar diproduksi oleh bakteri gram positif (Mandal *et al.*, 2013). Biosintesis dari lipopeptida ini diatur oleh enzim *Nonribosomal Peptide Synthetase* (NRPS) (Song *et al.*, 2015), Gen *Nonribosomal Peptide Synthetase* (NRPS) telah terdeteksi dari bakteri endofit akar *A. conyzoides* dan *V. zizanioides*. Pada akar *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* gen NRPS bakteri endofit menunjukkan keragaman yang berbeda sesuai dengan tumbuhan inangnya (Fitriani & Herdiansyah, 2016).

Hal tersebut karena kondisi internal yang berbeda-beda dari setiap jaringan maupun organ dari tumbuhan tersebut, sehingga mikrohabitat mikroorganisme endofit menjadi bervariasi (Lodewyckx *et al.*, 2002).

Fungi merupakan salah satu agen penyebab utama penyakit (Gordillo *et al.*, 2012). Beberapa kelompok fungi yang bersifat patogen bagi manusia memerlukan langkah-langkah pengendalian. Fungi patogen bagi manusia terdiri dari empat kelompok yaitu Zygomycetes, Ascomycetes, Deuteromycetes dan Basidiomycetes (Chakrabarti, 2005). Peningkatan dan perkembangan dari infeksi fungi mengharuskan pencarian baru anti fungi yang lebih aman dan efektif (Arif *et al.*, 2011).

Surfaktin merupakan senyawa bioaktif yang mampu bertindak sebagai anti fungi dengan langsung menghambat pertumbuhan spora (Meena & Kanwar, 2015 ; Cawoy *et al.*, 2014). Surfaktin terdiri dari tiga yaitu C₁₃-surfaktin, C₁₄-surfaktin dan C₁₅-surfaktin. Dari ketiga surfaktin tersebut C₁₅-surfaktin memiliki sifat sebagai anti fungi paling tinggi dibandingkan C₁₃-surfaktin dan C₁₄-surfaktin (Liu *et al.*, 2012).

Deteksi senyawa bioaktif anti fungi isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* juga penting untuk dikaji, salah satunya untuk mendapatkan informasi dan pemahaman mengenai gen anti fungi dari senyawa lipopeptida khususnya gen surfaktin. Lebih lanjut, pemahaman ini dapat digunakan untuk kepentingan penemuan dan produksi senyawa bioaktif. Oleh karena itu, perlu dilakukan studi untuk deteksi gen anti fungi isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan obat.

B. Rumusan Masalah

“Bagaimana hasil deteksi gen anti fungi isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan obat?”

C. Pertanyaan Penelitian

Pertanyaan penelitian yang dapat diambil dari rumusan masalah tersebut yaitu :

1. Bagaimana keberadaan gen anti fungi (gen surfaktin) isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan obat?
2. Bagaimana homologi antara jenis gen surfaktin yang dimiliki bakteri endofit dari akar tumbuhan obat dengan jenis gen surfaktin bakteri lain?
3. Bagaimana hubungan kekerabatan dan keragaman antara jenis gen surfaktin yang dimiliki bakteri endofit dari akar tumbuhan obat dengan jenis gen surfaktin bakteri lain?

D. Batasan masalah

Untuk memfokuskan ruang lingkup penelitian, pembatasan dilakukan pada parameter sebagai berikut :

1. Sampel yang digunakan sebanyak 7 (tujuh) isolat bakteri endofit yaitu isolat M, O, H, I13, I14, B14 dan B15. Isolat bakteri endofit M, O dan H yaitu berasal dari akar *V. zizanioides* dan isolat bakteri endofit I13, I14, B14 dan B15 berasal dari akar *A. conyzoides*. Sampel didapatkan dari hasil penelitian sebelumnya (Fitriani & Herdiansyah, 2016).
2. Gen anti fungi yang dideteksi yaitu gen surfaktin.
3. Primer yang digunakan untuk amplifikasi gen surfaktin adalah pasangan primer *forward–reverse* SUR3F dan SUR3R (Ramarathnam *et al*, 2007).

E. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini yaitu menganalisis hasil deteksi gen anti fungi isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan obat.

F. Manfaat

Manfaat praktis dan teoritis yang dapat diambil dari penelitian ini diantaranya :

1. Memberikan informasi jenis bakteri endofit akar *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* yang memiliki gen anti fungi berupa gen surfaktin.

2. Sebagai pustaka dalam pengembangan penelitian selanjutnya, dalam pengembangan produk anti fungi dari metabolit sekunder yang disintesis dari bakteri endofit.
3. Sebagai tambahan ilmu khususnya dalam bidang mikrobiologi dan biologi molekuler.

G. Struktur Organisasi

Bab I yaitu bab pendahuluan dalam skripsi deteksi gen anti fungi isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan obat, pada dasarnya menjadi bab perkenalan. Bab I memperkenalkan latar belakang, rumusan masalah, batasan masalah, tujuan dan manfaat dari skripsi ini.

Bab II dalam skripsi ini yaitu bagian kajian pustaka atau landasan teoretis dalam skripsi yang memberikan konteks yang jelas terhadap topik atau permasalahan mengenai deteksi anti fungi isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan obat. Bagian ini memiliki peran yang sangat penting karena berisikan konsep-konsep, teori-teori, hukum-hukum, model-model dan rumus-rumus utama serta turunannya dalam bidang gen anti fungi pada bakteri endofit serta metode analisis biologi molekuler.

Bab III merupakan bagian yang bersifat prosedural, yakni bagian yang mengarahkan pembaca untuk mengetahui bagaimana peneliti merancang alur penelitiannya. Metode analisis biologi molekuler seperti isolasi DNA kromosom, metode spektrofotometri, metode elektroforesis, metode PCR dan metode bioinformatika dalam penelitian ini dibahas pada bab III.

Bab IV merupakan bab yang menyampaikan dua hal utama, yakni temuan penelitian berdasarkan hasil pengolahan dan analisis data dengan berbagai kemungkinan bentuknya sesuai dengan urutan rumusan permasalahan penelitian dan pembahasan temuan penelitian untuk menjawab pertanyaan penelitian yang telah dirumuskan sebelumnya. Pada bab IV, mulai dari hasil isolasi DNA kromosom, spektrofotometer, amplifikasi, purifikasi, homologi dengan BLASTX, *Conserved Domain Search* (CDS) dan pohon filogenetik dibahas dan ditelaah. Bab V berisi

simpulan, implikasi dan rekomendasi, yang menyajikan penafsiran dan pemaknaan peneliti terhadap deteksi gen anti fungi isolat bakteri endofit dari akar tumbuhan obat.