

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Bakteri endofit merupakan kelompok bakteri yang hidup dan bersimbiosis dengan jaringan, daun, akar, buah, dan batang tanaman inang (Zhang *et al.*, 2006). Bakteri endofit dan tanaman inang hidup bersimbiosis saling menguntungkan, dalam hal ini bakteri endofit mendapatkan nutrisi dari hasil metabolisme tanaman dan memproteksi tanaman melawan herbivor, serangga, atau jaringan yang patogen sedangkan tanaman mendapatkan derivat nutrisi dan senyawa aktif yang diperlukan (Tanaka *et al.*, 1999 dalam Simarmata, 2007; Gunatilaka, 2006). Telah diketahui bahwa bakteri endofit memproduksi protein dan enzim yang penting bagi fungsi biologis sebagai metabolit sekunder dan bermanfaat bagi tanaman inang (Zhang *et al.*, 2006). Menurut Strobel dan Daisy (2003), saat ini terdapat sekitar 300.000 spesies tanaman di dunia yang menjadi inang dari satu atau lebih bakteri endofit.

Studi molekular pada penyebaran bakteri endofit menemukan keragaman spesies bakteri endofit. Bakteri endofit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, meningkatkan produksi tanaman, menekan mikroorganisme patogen, membantu mengurangi kontaminan pada fosfat atau berkontribusi dalam mengikat nitrogen. Gen-gen pada tanaman mengekspresi aktivitas bakteri endofit pada tanaman. Respon pertahanan pada tanaman menunjukkan banyaknya populasi bakteri di dalam tanaman (Rosenblueth dan Romero, 2006).

Bakteri endofit hidup dan berinteraksi dengan bakteri lain dalam tanaman inang (Rosenblueth dan Romero, 2006). Berkenaan dengan interaksinya terhadap bakteri lain, bakteri endofit menghasilkan antibiotik untuk menyerang dan menghambat pertumbuhan bakteri lain. Hal ini merupakan strategi dari kompetisi antarbakteri untuk mendapatkan nutrisi yang terdapat pada habitat yang mereka tempati. Ketika nutrisi yang ada terbatas, koloni bakteri akan menghasilkan antibiotik untuk menghancurkan atau menghambat pertumbuhan bakteri tetangga, sehingga hasil kompetisi ini akan mengurangi persaingan untuk mendapatkan nutrisi yang terbatas. Resistensi terhadap antibiotik merupakan bentuk adaptasi sel

bakteri (Seveno *et al.*, 2002). Menurut Wise (2004) dalam Brown (2008), selain dapat menghasilkan antibiotik, bakteri yang memproduksi antibiotik harus mampu bertahan dan memiliki mekanisme perlawanan terhadap antibiotik yang dihasilkan. Resistensi bakteri terhadap antibiotik telah menerima banyak perhatian karena penyebarannya yang cepat (Aminov dan Mackie, 2007). Mekanisme resistensi antibiotik dapat ditransfer melalui pertukaran materi genetik. Hal ini penting diketahui karena bakteri lingkungan non patogen merupakan reservoir utama gen resistensi yang pada akhirnya dapat ditularkan ke spesies patogen (Alonso *et al.*, 2001). Gen pada bakteri yang mengkode resistensi antibiotik dapat ditransfer dari satu bakteri ke bakteri lain sehingga bila bakteri patogen manusia atau hewan menerima gen yang mengkode resistensi antibiotik tertentu maka patogen tersebut akan sulit untuk dilawan (Badosa, *et al.*, 2004). Transfer gen resisten terjadi secara horizontal antarspesies, genus, familia dan bahkan antara bakteri dan eukaryota (Seveno *et al.*, 2002; D'Costa *et al.*, 2007; Aminov dan Mackie, 2007).

Ampisilin merupakan salah satu antibiotik β -laktam turunan penisilin yang telah banyak digunakan untuk melawan bakteri Gram positif dan beberapa bakteri Gram negatif. Gugus amino pada ampisilin dapat menembus membran luar bakteri dan berikatan dengan PBP (*penicillin binding protein*). PBP adalah anggota kelompok enzim transpeptidase yang berperan dalam pembentukan dinding sel bakteri (Lawrence dan Anthony, 2013). Bakteri endofit yang resisten terhadap ampisilin memiliki gen yang mengkode resistensi β -laktam yaitu gen β -laktamase. β -laktamase mencegah β -laktam berikatan dengan PBP. Bakteri menonaktifkan β -laktam dengan cara membelah cincin β -laktam menggunakan β -laktamase sehingga antibiotik tersebut tidak dapat berikatan dengan PBP dan dinding sel bakteri tidak dapat luruh (Livermore, 1995).

Isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari akar tanaman obat *Ageratum conyzoides* dan *Vetiveria zizanioides* Cultivation telah diketahui memiliki potensi bioaktif sebagai antibiotik (Fitriani, *et al.*, 2015; Fitriani, *et al.*, 2016). Namun, belum banyak terdapat penelitian mengenai potensi resistensi terhadap antibiotik, khususnya ampisilin pada bakteri endofit tanaman obat sehingga perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui potensi resistensi melalui analisis kekerabatan isolat

bakteri endofit yang memiliki potensi resisten terhadap antibiotik ampisilin dari bakteri endofit akar tanaman obat *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* Cultv.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan di atas, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah: “Bagaimana hasil analisis kekerabatan isolat bakteri endofit resisten ampisilin pada akar tanaman obat?”.

C. Pertanyaan Penelitian

Rumusan masalah di atas diuraikan dalam pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Isolat bakteri endofit mana saja yang diduga resisten terhadap antibiotik ampisilin?
2. Bagaimana kekerabatan isolat bakteri endofit resisten ampisilin pada akar tanaman obat?

D. Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi dengan parameter sebagai berikut:

1. Sampel yang digunakan sebanyak 9 isolat bakteri endofit yang terdiri dari 5 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman *V. zizanioides* Cultv. yaitu isolat M, O, H, A, dan K; serta 4 isolat bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman *A. conyzoides* yaitu isolat I13, I14, B14, dan B15.
2. Konsentrasi ampisilin yang digunakan dalam penelitian ini dengan kisaran 10 µg/ml, 20 µg/ml dan 30 µg/ml.
3. Analisis yang dilakukan adalah analisis kekerabatan sikuen parsial gen 16S rRNA yang diamplifikasi menggunakan primer 63F (5'-CAGGCCTAACACATGCAAGTC -3') dan 1387R (5'-GGGCGGWTGTACAAGGC -3') (Marchesi, *et al.*, 1998). Analisis bioinformatik sikuen parsial gen *16S rRNA* menggunakan program BLASTN pada situs GeneBank.

E. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini diuraikan sebagai berikut:

1. Mendapatkan isolat bakteri endofit akar *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* Cultv. yang memiliki potensi resisten terhadap antibiotik ampisilin.
2. Mendapatkan amplikon hasil isolasi dan amplifikasi isolat bakteri endofit yang memiliki resistensi terhadap ampisilin.
3. Mendapatkan pola kekerabatan isolat bakteri endofit yang memiliki resistensi terhadap ampisilin.

F. Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian diuraikan sebagai berikut:

1. Memberikan informasi mengenai potensi resistensi antibiotik ampisilin pada bakteri endofit akar tanaman obat.
2. Memberikan informasi mengenai kekerabatan bakteri endofit yang resisten terhadap antibiotik pada tanaman obat *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* Cultv.
3. Sebagai landasan bagi penelitian selanjutnya dalam pengembangan analisis molekuler terhadap gen-gen yang bertanggung jawab dalam resistensi antibiotik.
4. Memberikan kontribusi ilmiah khususnya dalam bidang mikrobiologi dan biologi molekuler.

G. Struktur Organisasi Skripsi

Bab I berisi latar belakang penelitian, rumusan masalah, pertanyaan penelitian, tujuan penelitian, batasan masalah, dan manfaat penelitian. Latar belakang dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi resistensi melalui analisis kekerabatan isolat bakteri endofit yang memiliki potensi resisten terhadap antibiotik ampisilin dari bakteri endofit akar tanaman obat *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* Cultv. Penelitian ini memiliki batasan masalah yang memudahkan peneliti untuk mendapatkan hasil yang akurat sehingga dapat menjawab rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi mengenai analisis kekerabatan isolat bakteri endofit yang memiliki potensi resisten terhadap antibiotik ampisilin dari bakteri endofit akar tanaman obat *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* Cultv.

Bab II berisi kajian pustaka dari sumber-sumber yang relevan dengan penelitian. Pada Bab II dipaparkan secara detail mengenai literatur yang menunjang sehingga dapat menjadi landasan yang kokoh dalam memperkuat data yang terdapat pada penelitian. Pada kajian pustaka, terdapat uraian bahasan tentang bakteri endofit, tanaman *A. conyzoides*, *V. zizanioides* Cultv., ampisilin dan mekanisme resistensi ampisilin, gen *16S rRNA*, dan metode analisis data berupa uji resistensi, isolasi DNA, mengukur konsentrasi dan kemurnian DNA, amplifikasi menggunakan mesin PCR, elektroforesis, sikuensing, dan pengolahan data secara bioinformatika.

Bab III berisi rancangan metode penelitian yang membahas mengenai gambaran dan desain penelitian yang dikerjakan. Pada Bab III dipaparkan secara bertahap mengenai langkah-langkah penelitian yang telah dikerjakan, berupa tahap persiapan, tahap penelitian, hingga tahap analisis data. Prosedur penelitian ini disusun menggunakan alur penelitian sehingga memudahkan peneliti dan peneliti lain yang akan mengerjakan penelitian untuk melihat gambaran umum tahapan pelaksanaan penelitian.

Bab IV berisi temuan yang didapat dari hasil penelitian yang telah dilakukan kemudian dianalisis dan dibahas secara detail dan menyeluruh. Hasil temuan yang didapat dari penelitian ini diantaranya berupa, hasil uji resistensi isolat bakteri endofit terhadap antibiotik ampisilin, konsentrasi dan kemurnian sampel uji, amplifikasi dan analisis kekerabatan berdasarkan sikuen gen *16S rRNA*. Hasil temuan ini kemudian dibandingkan dengan teori yang telah dipaparkan pada Bab II.

Bab V berisi simpulan, implikasi dan rekomendasi dari penelitian yang telah dilakukan. Bab ini merupakan bagian terakhir dari skripsi yang menyimpulkan hasil analisis kekerabatan isolat bakteri endofit yang memiliki potensi resisten terhadap antibiotik ampisilin dari bakteri endofit akar tanaman obat *A. conyzoides* dan *V. zizanioides* Cultv. yang telah dibahas pada Bab IV. Penelitian ini diharapkan mampu memberikan kontribusi mengenai potensi resisten dan kekerabatan bakteri endofit yang memiliki potensi resistensi tersebut bagi komunitas ilmiah. Akan lebih baik jika penelitian ini dilanjutkan analisis secara spesifik gen-gen yang bertanggung jawab dalam resistensi antibiotik.