BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Taxus sumatrana (Miquel) de Laub. atau dikenal dengan nama Cemara Sumatra merupakan tanaman langka asli Indonesia yang memiliki kandungan bahan aktif antikanker, dikenal dengan nama taxol atau paclitaxel. Penelitian yang dilakukan oleh Hidayat & Tachibana (2013) menjelaskan bahwa kulit batang *T. sumatrana* mengandung *DBAT* dan *BAPT*, kedua senyawa tersebut merupakan produk antara (*precursor*) dari biosintesis Taxol. *DBAT* dan *BAPT* juga ditemukan pada daun dan batang muda *T. sumatrana* (Kitagawa dkk, 1995; Shen dkk, 2005). Taxol menjadi perhatian dunia karena sebagaimana diketahui bahwa solusi permasalahan penyakit kanker sampai saat ini masih belum ditemukan. Kanker masih menjadi salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Kanker adalah istilah umum yang digunakan untuk mendefinisikan suatu penyakit yang ditandai dengan proliferasi sel yang tidak terkendali, disebabkan oleh gangguan atau disfungsi dari jalur pengaturan sinyal di bawah kontrol ketat. Kanker dapat menyebar dengan cepat dan menyerang jaringan dan organ (McCauley, dkk. 2013). Berdasarkan data dari Pusdatin Kementerian Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 2012, sekitar 8,2 juta kematian disebabkan oleh kanker. Kasus kanker tahunan diperkirakan akan meningkat dari 14 juta pada 2012 menjadi 22 juta dalam dua dekade berikutnya (Kementerian Kesehatan RI, 2015).

Penemuan taxol menjadi titik terang dalam dunia medis, sehingga banyak sekali dilakukan penelitian mengenai taxol dan menjadi obat antikanker paling dicari di dunia karena efek samping yang kecil, efektif, dan efisien dalam membunuh sel kanker (Zhou *et al.*, 2010). Meningkatnya permintaan taxol di dunia menimbulkan kekhawatiran akan eksploitasi yang akan terjadi pada *Taxus*, sehingga *Taxus* dimasukkan ke dalam status konservasi Appendix II CITES (CITES, 2005).

Keberadaan *T. sumatrana* di Indonesia hanya ada di tiga daerah yaitu di pulau Sumatra (Gunung Kerinci), di Bogor (Kebun Raya Cibodas) dan Sulawesi. Jumlah individu yang ditemukan sampai tahun 2016 adalah sebanyak 60 individu

Dewani Tedia Yusepany, 2018

IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DARI KULIT BATANG *Taxus sumatrana* (Miquel) de Laub. MENGGUNAKAN SEKUEN DNA DAERAH ITS

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

(Frianto dan Novrianti, 2016). Keterbatasan sumber daya penghasil taxol ini membuat peneliti mencari sumber alternatif lain tanpa mengeksploitasi *T. sumatrana*.

Pada tahun 1993, Strobel dkk peneliti asal USA mengidentifikasi taxol dari kapang endofit yang terdapat pada kulit batang *T. brevifolia* yaitu *Taxomyces andreanae* dengan menggunakan *mass spectrometry*, kromatografi dan antibodi monoklonal. Kemudian muncul penemuan-penemuan berikutnya mengenai kapang endofit penghasil taxol dari genus *Taxus*, diantaranya *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Monochaetia*, *Pestalotiopsis*, *Pithomyces*, *Penicillium* dan *Xylaria* (Flores- Bustamante et al. 2010; Strobel et al. 1996; Soca-Chafre dkk. 2011; Zhang dkk. 2009; Zhaoetal. 2009; Kumaran, dkk. 2010).

Kapang endofit merupakan jamur semi mikroskopis yang hidup di dalam jaringan tumbuhan. Kapang endofit di dalam jaringan tumbuhan dapat menjaga inangnya dari patogen dan memiliki kemampuan beradaptasi untuk bertahan hidup di lingkungan yang tidak menguntungkan. Metabolit yang dihasilkan oleh tanaman inangnya akan dihasilkan pula oleh endofit di dalamnya (Strobel dan Daisy, 2003; Bhagobaty dan Joshi, 2011). Dari hasil penemuan tersebut dapat diperkirakan bahwa kapang endofit pada *T. sumatrana* pun berpotensi menghasilkan taxol. Selain itu, penggunaan kapang endofit sebagai sumber alternatif penghasil taxol memiliki beberapa kelebihan diantaranya mudah di kultur, efisiensi sumber daya alam, berkembang biak dengan pesat (Lin dkk., 2003), dapat menghasilkan zat yang lebih banyak dan biaya yang dikeluarkan tidak terlalu mahal.

Di Indonesia tidak banyak informasi yang bisa didapat dari *T. sumatrana* termasuk kapang endofit yang berpotensi menghasilkan taxol karena belum banyak dilakukan penelitian mengenai tanaman langka asli Indonesia ini. Identifikasi kapang endofit merupakan proses yang wajib dilakukan untuk melihat status taksonomi endofit dengan karakteristik morfologi ataupun molekuler (Lin dkk., 2003; Zhou dkk, 2009). Berdasarkan fakta bahwa kapang endofit memiliki

potensi yang besar dalam pengembangan ilmu pengetahuan di berbagai bidang salah satunya bidang medis.

Klasifikasi kapang menghadapi tantangan khusus karena fosil kapang hampir tidak ada. Meskipun banyak spesies dengan mudah dikelompokkan berdasarkan karakteristik koloni, tetapi mungkin saja hasilnya tidak konsisten dengan hubungan filogenetik sebenarnya. Oleh karena itu, klasifikasi jamur sangat kompleks dan kacau (Miu dan Hong 2007). Wei (dalam Zhou, dkk. 2010) mengatakan bahwa identifikasi morfologi strain kapang endofit dilakukan dengan mengamati kondisi pertumbuhan kapang pada media kultur. Hifa dimasukkan melalui kultur cair atau padat dengan metode khusus. Kemudian di bawah mikroskop, kapang diidentifikasi miselium, struktur spora, kondisi konidiospora, morfologi spora, warna, mekanisme sporulasi dan karakter lainnya yang dilihat pada kultur. Beberapa strain kapang pada media kultur tidak menghasilkan spora, yang berarti kapang ini tidak bisa diidentifikasi dengan karakter morfologi (Zhang, dkk. 1999). Dengan kemajuan ilmu pengetahuan, teknologi, dan pengembangan taksonomi, metode biologi molekuler diperkenalkan ke dalam taksonomi modern dari kapang. Penggunaan DNA ribosomal (rDNA) 18S yang relatif konservatif dan urutan *internal transcribed spacer* (ITS) sangat efisien untuk melakukan analisis pengelompokan filogenetik dan untuk meneliti keragaman jamur (Si, dkk. 2008).

Contoh penggunaan metode biologi molekuler adalah pada penelitian yang dilakukan oleh Yli-mattila, dkk ketika mengklasifikasikan spesies *Fusarium* dan varietasnya karena perbedaannya sangat minim. Klasifikasinya harus didukung dengan teknik biologi molekuler dengan menggunakan sekuen 18S rDNA, ITS, dan gen β -tubulin (TB) untuk mengidentifikasi kapang endofit *Fusarium* sebagai kapang endofit penghasil taxol. Metode biologi molekuler memiliki keunggulan diantaranya memiliki spesifisitas tinggi, akurasi tinggi, dan sederhana, namun teknik ini tidak bisa menggantikan teknik konvensional dalam identifikasi jamur (Yang dan Zhou, 2004) akan lebih baik digunakan keduanya untuk melengkapi kekurangan dari masing-masing metode.

Internal Transcribed Spacer (ITS) adalah salah satu marka molekuler yang digunakan untuk membedakan organisme antar spesies, umum digunakan untuk tumbuhan dan jamur. Selain dari mengidentifikasi spesies pada jamur, marka molekuler ITS juga digunakan untuk menganalisis kekerabatan antar spesies dalam hal ini untuk melihat kedudukan dari setiap spesies. Penelitian dengan menggunakan marka molekuler ITS dalam identifikasi jamur sudah banyak digunakan, begitupun dengan kapang endofit diantaranya Roopa, dkk (2014) identifikasi kapang endofit dari *Salacia oblonga* dan Mirjalili, dkk (2012) identifikasi kapang endofit dari *T. baccata*. Namun penelitian mengenai identifikasi kapang endofit dari *T. sumatrana* belum pernah dilakukan, maka dari itu penelitian identifikasi kapang endofit dari *T. sumatrana* sangat penting untuk dilakukan.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah, “Bagaimana hasil identifikasi kapang endofit yang diisolasi dari kulit batang *Taxus sumatrana* menggunakan sekuen DNA daerah ITS?”

1.3 Pertanyaan Penelitian

Pertanyaan peneliti yang dapat diambil dari rumusan masalah tersebut yaitu:

- 1) Bagaimana hasil karakterisasi kapang endofit dari kulit batang *T. sumatrana* ?
- 2) Bagaimana hasil amplifikasi DNA kapang menggunakan sekuen DNA daerah ITS ?
- 3) Kapang endofit spesies apa saja dari kulit batang *T. sumatrana* yang ditemukan dengan analisis hasil sekuensing ?
- 4) Bagaimana hubungan kekerabatan kapang endofit *T. sumatrana* ?

1.4 Batasan Masalah

Agar permasalahan yang dikaji tidak terlalu luas, maka peneliti membatasi masalah pada:

- 1) Tanaman Cemara Sumatra (*T. sumatrana*) yang dimaksud adalah tanaman *T. sumatrana* (Miquel) de Laub. yang terdapat di Kebun Raya Cibodas, Bogor, Jawa Barat.
- 2) Sekuen daerah ITS yang dimaksud dalam penelitian ini adalah daerah ITS-1 dan ITS-2 dan primer yang digunakan adalah ITS1 untuk primer forward dan ITS4 untuk primer reverse.

1.5 Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil karakterisasi dan identifikasi kapang endofit yang diisolasi dari *T. sumatrana* dengan menggunakan sekuen DNA daerah *Internal Transcribed Spacer* sehingga dapat diketahui spesies dan kekerabatannya.

1.6 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah :

- 1) Memberikan informasi mengenai karakteristik kapang endofit yang diisolasi dari kulit batang *T. sumatrana*.
- 2) Memberikan informasi baru mengenai keanekaragaman spesies kapang endofit pada *T. sumatra*.
- 3) Memberikan informasi mengenai hubungan kekerabatan kapang endofit dari *T. sumatrana*.

1.7 Struktur Organisasi

Secara umum, gambaran tentang isi dari skripsi ini dapat dilihat dalam struktur organisasi penulisan skripsi berikut ini.

1) Bab I Pendahuluan

Bab pendahuluan merupakan bab perkenalan yang didalamnya dijelaskan mengenai latar belakang yang menjadi alasan dilakukannya penelitian. Pada bab ini dijelaskan pula rumusan masalah serta batasannya juga penjelasan mengenai tujuan dan tentunya manfaat dari penelitian yang dilakukan.

2) Bab II Kajian Pustaka

Dewani Tedia Yusepany, 2018

IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DARI KULIT BATANG *Taxus sumatrana* (Miquel) de Laub. MENGGUNAKAN SEKUEN DNA DAERAH ITS

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Bagian ini memberikan konteks yang jelas terhadap topik permasalahan yang diangkat dalam penelitian dan mencakup sumber rujukan yang terkini. Pada bab ini dipaparkan mengenai teori-teori dan penelitian terdahulu yang relevan dengan bidang kajian yang diteliti. Pertama penjelasan mengenai kapang endofit. Kedua mengenai pohon *Taxus sumatrana* (Miquel) de Laub. sebagai penghasil zat antikanker. Ketiga mengenai teknik dasar biologi molekuler termasuk didalamnya mengenai DNA barcoding.

3) Bab III Metode Penelitian

Pada bab III, penjelasan bersifat prosedural yang berisi metode penelitian yang digunakan secara terperinci mencakup jenis penelitian, populasi dan sampel waktu dan lokasi penelitian, alat dan bahan, prosedur penelitian, teknik analisis data dan alur penelitian yang dilakukan.

4) Bab IV Temuan dan Pembahasan

Bab ini menyampaikan dua hal utama, yaitu 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 dirumuskan sebelumnya. Bab ini merupakan hasil dari penerapan metode yang dilakukan pada bab III dan analisis serta relevansi dengan teori-teori yang dikemukakan pada bab II.

5) Bab V Simpulan, Implikasi dan Rekomendasi

Bab ini berisi simpulan, implikasi, dan rekomendasi, yang menyajikan penafsiran dan pemaknaan peneliti terhadap hasil analisis temuan penelitian sekaligus mengajukan hal-hal penting yang dapat dimanfaatkan dari hasil penelitian.

Dewani Tedia Yusepany, 2018

IDENTIFIKASI KAPANG ENDOFIT DARI KULIT BATANG *Taxus sumatrana* (Miquel) de Laub. MENGGUNAKAN SEKUEN DNA DAERAH ITS

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu