

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Adanya berbagai jenis makhluk hidup yang diciptakan Allah di alam semesta ini, merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang yang mau berfikir. Karena setiap sesuatu yang diciptakan oleh Allah pasti memiliki faedah yang sangat berguna bagi kesejahteraan manusia. Allah berfirman dalam QS. Ali-Imran ayat 190-191 yang berbunyi.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

Artinya. *“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal, (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka (QS. Ali-Imran: 190-191).*

Ayat tersebut menunjukkan bahwa dalam penciptaan langit dan bumi serta sesuatu yang ada di dalamnya, termasuk dalam pergantian siang dan malam, keteraturan yang ada di dalamnya menunjukkan keesaan Allah dan kesempurnaan kehendakNya. Manusia sebagai makhluk yang diberi kelebihan akal diperintahkan oleh Allah untuk mengkaji/meneliti apa-apa yang telah diciptakanNya, karena Allah tidak akan menciptakan segala

sesuatu dengan sia-sia. Sebagaimana Allah menciptakan bakteri endofit dan mikroorganisme lain, semuanya memiliki faedah yang berguna bagi kesejahteraan manusia.

Mikroorganisme adalah sumber enzim yang paling banyak digunakan dibandingkan dengan tanaman dan hewan. Sebagai sumber enzim, mikroorganisme dinilai lebih menguntungkan karena pertumbuhannya cepat, dapat tumbuh pada substrat yang murah dan lebih mudah ditingkatkan hasilnya melalui pengaturan kondisi pertumbuhan. Enzim merupakan katalisator pilihan yang diharapkan dapat mengurangi dampak pencemaran dan pemborosan energi karena reaksinya tidak membutuhkan energi tinggi, bersifat spesifik, dan tidak beracun (Aunstrup *et al.*, 1979 dalam Akhdia, 2003).

Salah satu mikroba yang mampu menghasilkan enzim yang bermanfaat bagi tumbuhan-tumbuhan adalah bakteri endofit. Bakteri endofit adalah organisme hidup yang berukuran mikroskopis yang hidup di dalam jaringan tanaman (*xylem* dan *phloem*), daun, akar, buah, dan batang (Tanaka *et al.*, 1999 dalam Simarmata *et al.*, 2007). Mikroba endofit dapat membentuk koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan inangnya (Syarmalina dan Hanafi, 2006).

Umumnya bakteri endofit merupakan bakteri yang menguntungkan, karena dapat digunakan sebagai agen biokontrol (Harni *et al.*, 2006), anti mikroba, anti kanker (Kumala, 2009), antioksidan, antiinflamasi, immunosupresi, dan antidiabetes (Rahmawati, 2009).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, Wardhani (2009) telah berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri endofit yang berasal dari akar tanaman kentang. Dari hasil isolasi tersebut didapatkan 3 isolat bakteri endofit yaitu *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas pseudomallei*, dan *Klebsiella ozaenae*. Ketiga bakteri tersebut selanjutnya diuji sebagai antagonis terhadap nematoda sista kuning (*Globodera rostochiensis*) dan masing-masing bakteri memiliki nilai penghambatan terhadap larva nematoda *G. rostochiensis* secara berturut-turut sebanyak 87,70%, 78,44%, dan 58,66%.

Al-Jauzi (2006) dalam Ahmad (2008: 1) menjelaskan bahwa Syaikh Imam Ibn Qayyim meriwayatkan, Rasulullah telah bersabda

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً

Artinya: "Allah tidak menurunkan penyakit kecuali menurunkan pula obatnya".

Kemudian Al-Jauzi (2006) dalam Ahmad (2008) juga menjelaskan bahwa Jabir Ibn Abdillah meriwayatkan:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ

Artinya: "Untuk setiap penyakit ada obatnya".

Kedua hadits yang diriwayatkan oleh Syaikh Imam Ibn Qayyim dan Jabir Ibn Abdillah, kedua-duanya sama-sama menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Begitu juga tanaman yang terserang hama dan penyakit pasti ada penanggulangannya. Maka hal inilah yang menjadi salah satu dasar pemanfaatan bakteri endofit untuk menginduksi ketahanan

tanaman dari serangan hama nematoda (*Globodera rostochiensis*) dan patogen tanaman.

Kemampuan Bakteri endofit (*B. mycooides*, *P. Pseudomallei* dan *K.ozaena*) tanaman kentang sebagai antagonis *Globodera rostochiensis* diduga karena ketiga bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim kitinase, protease, dan selulase yang berperan penting dalam mekanisme induksi pertahanan tanaman terhadap serangan nematoda (Harni *et al.*, 2007) dan hama pengganggu (Supriadi, 2006).

Kitinase merupakan enzim yang berperan aktif dalam mengkatalis degradasi kitin (Nasran *et al.*, 2003). Kitin merupakan homopolimer dari  $\beta$ -1,4 N-asetil-D-glukosamin dan merupakan biopolimer kedua terbanyak di alam setelah selulosa. Senyawa ini dapat ditemukan pada cangkang udang kepiting, molusca, serangga, annelida (Yurnaliza, 2002) nematoda, dan beberapa dinding sel pada jamur, fungi dan alga (Suryanto dan Munir, 2006). Kitinase dapat menghidrolisis senyawa kitin secara acak pada ikatan glikosidiknya (Nasran *et al.*, 2003).

Dalam proses menginduksi ketahanan tanaman kentang dari serangan nematoda sista kuning (*G.rostochiensis*), enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri endofit (*B. mycooides*, *P. pseudomallei* dan *K. ozaenae*) dimanfaatkan untuk melakukan penetrasi kutikula sista *G. rostochiensis* dan menghidrolisis telur nematoda *G. rostochiensis* yang sebagian besar penyusunnya adalah zat kitin (Wardhani, 2009). Harni (2007) menyatakan bahwa enzim kitinase merupakan enzim penting yang dihasilkan bakteri endofit untuk

mengendalikan nematoda karena enzim ini dapat mendegradasi lapisan tengah telur nematoda seperti *M. javanica*, *R. reniformis*, *Tylenchulus semipenetrans*, dan *Pratylenchus minyus*. dan lapisan luar telur *Heterodera schachtii* dan *H. glycines* (Perry & Trett 1986 dalam Pujiyanto *et al*, 2008). dan juga mampu menghambat pertumbuhan larva nyamuk *Aedes aegypti* (Pujiyanto *et al*, 2008).

Secara umum enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri endofit berperan penting dalam kontrol fungi patogen tanaman secara mikoparasitisme. *Bacillus subtilis* merupakan salah satu contoh bakteri endofit yang telah dilaporkan mampu menghasilkan enzim litik berupa kitinase dan  $\beta$ -1-3 glukukanase. Kitin (poli- $\beta$ -1,4-N-asetilglukosamin) merupakan struktur komponen utama dinding sel jamur (Nugroho *et al.*, 2003). Enzim kitinolitik sangat penting dipertimbangkan sebagai agen biologi kontrol terhadap patogen tanah karena endofit memiliki kemampuan untuk mendegradasi dinding sel fungi (Singh *et al.*, 1999).

Pada tanaman kentang bakteri endofit menginduksi ketahanan tanaman dengan cara mengkolonisasi jaringan internal akar dan melindungi akar dari infeksi nematoda dengan menghasilkan antibiotik dan enzim pendegradasi (protease dan kitinase) (Hallmann *et al.* 2001). Kemampuan bakteri endofit mengkolonisasi jaringan tanaman merupakan faktor penting dalam menekan perkembangan patogen. Proses kolonisasi akar oleh bakteri endofit sama dengan proses patogenesis bakteri patogen mengkolonisasi inang, yaitu kontak dengan permukaan akar, pengenalan, penetrasi,

multiplikasi, dan kolonisasi (Hallmann *et al.*, 2001). Adapun struktur dinding sel tanaman tersusun atas selulosa, hemiselulosa, dan pectin. Selulosa bersifat Kristal sehingga dalam proses mengkolonisasi jaringan akar tanaman, bakteri endofit membutuhkan peranan enzim selulase untuk mendegrasi dinding sel tersebut (Marwanto, 2010 dan Harni *et al.*, 2007).

Pada dasarnya selulosa merupakan polimer terbanyak sebagai nutrisi yang ada di alam, 40% material dinding sel tanaman adalah selulosa. Selulosa mempunyai struktur kimia yang sederhana yang terdiri dari rantai lurus 3000-10.000 residu glukosa yang diikat dengan ikatan  $\beta$ -1,4. Untuk memutuskan rantai ini diperlukan enzim selulase yang merupakan kompleks dari enzim selobiohidrolase, endoglukanase dan  $\beta$ -glukosidase. Selobiohidrolase memecah unit-unit disakarida (selobiosa) dari ujung rantai, endoglukanase menyerang bagian tengah rantai secara random dan  $\beta$ -glukosidase memecah selobiosa menjadi glukosa (Irawan, 2008). Enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri endofit ini berperan penting dalam proses penetrasi dinding sel jaringan epidermal inang dan membentuk simbiosis dalam memperoleh nutrisi makanan (Schulz *et al.*, 2006).

Enzim lain yang dihasilkan oleh bakteri endofit adalah protease, yaitu enzim yang memiliki daya katalitik yang spesifik dan efisien terhadap ikatan peptida dari suatu molekul polipeptida atau protein. Protease yang dihasilkan oleh bakteri endofit memainkan peranan penting pada proses penetrasi dan migrasi ke jaringan inang definitif (Ummulbalqis, 2006).

Menurut Sutariati *et al.*, (2006) bahwa beberapa bakteri dari genus *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, dan *Serratia sp.* merupakan bakteri yang dapat memproduksi enzim ekstraseluler seperti kitinase, protease, dan selulase sebagai agen antagonis terhadap patogen tanaman. Melihat dari hasil penelitian sebelumnya (Wardhani, 2009) sangatlah memungkinkan apabila bakteri endofit (*B. mycooides*, *P. pseudomallei* dan *K. ozaenae*) yang berhasil melisiskan sista NSK, juga mampu menghasilkan ketiga enzim ekstraseluler tersebut. Berdasarkan hal tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk menggali potensi bakteri endofit dalam menghasilkan enzim kitinase, protease dan selulase yang berperan dalam mekanisme induksi ketahanan tanaman.

### **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian yang telah dijelaskan dalam latar belakang, maka permasalahan dalam penelitian ini adalah apakah bakteri endofit *B. mycooides*, *P. pseudomallei* dan *K. ozaenae* berpotensi dalam menghasilkan enzim kitinase, protease, dan selulase secara *in vitro*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah yang telah ada maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi bakteri endofit *B. mycooides*, *P. pseudomallei* dan *K. ozaenae* dalam menghasilkan enzim kitinase, protease, dan selulase secara *in vitro*.

#### **1.4 Hipotesis**

Adapun hipotesis yang melandasi penelitian ini adalah bakteri endofit *B. mycooides*, *P. pseudomallei*, dan *K. ozaenae* memiliki potensi dalam menghasilkan enzim *kitinase*, *protease*, dan *selulase*.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Setiap penelitian diharapkan dapat memberikan manfaat baik bagi peneliti, maupun bagi masyarakat pada umumnya, adapun manfaat dilakukannya penelitian ini antara lain:

1. Menyumbangkan pengetahuan mengenai potensi bakteri endofit dalam menghasilkan enzim *kitinase*, *protease*, dan *selulase* yang berperan penting dalam mekanisme pertahanan tanaman dari patogen dan hama pengganggu.
2. Dengan adanya enzim pertahanan tersebut diharapkan bakteri endofit mampu dijadikan sebagai agen pengendali hayati tanaman.

#### **1.6 Batasan Masalah**

Agar penelitian ini dapat terfokus pada obyek yang diteliti, maka perlu dilakukan pembatasan masalah sebagai berikut:

1. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui potensi bakteri endofit dalam menghasilkan enzim *kitinase*, *protease* dan *selulase* secara *in vitro*.

2. Parameter yang diukur adalah zona bening (*Halozone*) yang dihasilkan oleh bakteri endofit yang ditumbuhkan pada media uji dengan substrat yang berbeda (media agar kitin untuk uji kitinase, media susu skim untuk uji protease dan media CMC untuk uji selulase).
3. Bakteri endofit yang digunakan adalah bakteri hasil isolasi dari akar tanaman kentang oleh peneliti sebelumnya Wardhani (2009) yaitu *Bacillus mycoides*, *Pseudomonas pseudomallei*, *Klebsela ozaenae*.
4. Perlakuan yang digunakan untuk uji aktivitas hidrolitik adalah kultur bakteri tunggal (*P. pseudomallei*, *B. mycoides* dan *K. ozaenae*) dan kultur bakteri kombinasi (*P. pseudomallei* dengan *B. mycoides*; *P. pseudomallei* dengan *K. ozaenae*; *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*; dan kombinasi *P. pseudomallei*, *B. mycoides* dengan *K. ozaenae*).